

Mestrado Integrado em Medicina

Ano lectivo 2009/2010

Dissertação de Mestrado – Artigo de revisão bibliográfica

Estatinas – Transversalidade das suas aplicações clínicas

Estudante:

Paulo André Gouveia Vieira

6º ano profissionalizante – ICBAS

Orientadora:

Maria Sofia Nogueira Ribeiro e Freitas Cabral

Índice

<u>RESUMO</u>	<u>3</u>
<u>ABSTRACT</u>	<u>4</u>
<u>INTRODUÇÃO</u>	<u>5</u>
<u>METODOLOGIA</u>	<u>7</u>
<u>PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS DAS ESTATINAS</u>	<u>8</u>
<u>AS ESTATINAS E SEUS PRINCIPAIS PONTOS DE ACÇÃO</u>	<u>11</u>
ESTATINAS E AS PROTEÍNAS RHO	11
ESTATINAS E AS PROTEÍNAS RAS	12
ESTATINAS E OS RECEPTORES ACTIVADOS PELOS PROLIFERADORES PEROXISSOMAI	12
<u>EFEITOS PLEIOTRÓPICOS DAS ESTATINAS</u>	<u>14</u>
AS ESTATINAS E O ENDOTÉLIO VASCULAR	14
AS ESTATINAS E AS CÉLULAS MUSCULARES LISAS VASCULARES	15
AS ESTATINAS E O MIOCÁRDIO	16
AS ESTATINAS E AS PLAQUETAS	18
<u>EFEITOS DAS ESTATINAS NAS DOENÇAS CARDIOVASCULARES</u>	<u>20</u>
ESTATINAS E A ATEROSCLEROSE	20
ESTATINAS E O AVC	22
<u>EVIDÊNCIA DE EFEITOS PLEIOTRÓPICOS DAS ESTATINAS EM ENSAIOS CLÍNICOS</u>	<u>23</u>
<u>CONCLUSÃO</u>	<u>26</u>
<u>BIBLIOGRAFIA</u>	<u>27</u>
<u>ANEXOS</u>	<u>42</u>
FIGURAS	42
ACRÓNIMOS UTILIZADOS NO TRABALHO	45

Resumo

Os inibidores da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase ou estatinas, são extensamente prescritos para a redução de colesterol plasmático na prevenção primária e secundária da doença cardiovascular. Estudos recentes sugerem que os efeitos benéficos das estatinas não resultam apenas da redução do colesterol, mas também, dos seus efeitos pleiotrópicos ou independente do colesterol. Estes efeitos independentes do colesterol incluem, a melhoria da função endotelial, a diminuição da migração e proliferação das células musculares lisas vasculares, a atenuação da remodelagem vascular e miocárdica, a inibição da agregação plaquetária, a diminuição da inflamação vascular e da oxidação e a estabilização de placas ateroscleróticas. Os efeitos pleiotrópicos das estatinas resultam, predominantemente, da capacidade destas em inibir a síntese de isoprenóides, que são fundamentais para o funcionamento de proteínas responsáveis pela sinalização intracelular, como as Ras e as Rho. Em particular, a inibição da Rho e de um dos seus alvos a jusante, Rho cinase, pode ser o principal mecanismo responsável pelos efeitos pleiotrópicos das estatinas. Novos mecanismos para estes efeitos das estatinas estão a ser estudados, como a sua acção sobre os receptores activados pelos proliferadores peroxissomais. O objectivo desta revisão é tentar compreender os efeitos pleiotrópicos das estatinas e o processo pelo qual eles agem na doença cardiovascular

Palavras-chave: estatinas, efeitos pleiotrópicos, colesterol, doença cardiovascular, isoprenilação.

Abstract

The 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors, otherwise known as statins, are extensively prescribed for cholesterol lowering both in primary and secondary prevention settings of cardiovascular disease. Recent compelling evidence suggests that the beneficial effects of statins may not only be due to their cholesterol lowering effects, but also, to their cholesterol-independent or pleiotropic effects. These cholesterol-independent effects act by improving endothelial function, decreasing vascular smooth muscle cell migration and proliferation, attenuating vascular and myocardial remodeling, inhibiting platelet aggregation, reducing vascular inflammation and oxidation, and stabilizing atherosclerotic plaques. These cholesterol-independent effects of statins are predominantly due to their ability to inhibit isoprenoid synthesis, the products of which are important for intracellular signaling proteins, such as, Rho and Ras. In particular, inhibition of Rho and one of its downstream targets, Rho kinase, may be the main mechanism contributing to the pleiotropic effects of statins. Other new mechanisms that can contribute to these effects of statins, such as, the activation of Peroxisome proliferator-activated receptor are being studied. The aim of this review is to try to understand the pleiotropic effects of statins, and the process by which they act in cardiovascular disease.

Key words: Statins, pleiotropic effects, cholesterol, cardiovascular disease, isoprenylation

Introdução

A doença cardiovascular (DCV) é a principal causa de morte a nível mundial e segundo a Organização Mundial de Saúde, em 2004, esta foi responsável por 17.1 milhões de mortes o que correspondeu a 29% da mortalidade por todas as causas. Dessas estima-se que 7.2 milhões de mortes correspondam a doença coronária e 5.7 devido a acidente vascular cerebral (AVC).

As preocupações com as consequências da DCV não são recentes e ao longo dos anos foram feitos vários estudos e investigações com o intuito de desenvolver medidas não farmacológicas e farmacológicas capazes de diminuir os riscos associados às doenças cardiovasculares

Dentre as causas de DCV, a doença coronária é a mais preocupante, estando esta intimamente relacionada com a aterosclerose. O desenvolvimento da aterosclerose é dependente de diversos processos e factores,¹ estando comprovada uma relação directa entre o aumento de colesterol plasmático e a aterosclerose.^{2,3} Vários estudos de referência como o *Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S)*,⁴ o *Cholesterol and Recurrent Events (CARE)*,⁵ o *Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease (LIPID)*,⁶ o *West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS)*,⁷ o *Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study (AFCAPS/TexCAPS)*,⁸ o *Heart Protection Study (HPS)*⁹ e o *Anglo-Scandinavian Cardiac Outcome Trial Lipid-lowering Arm (ASCOT-LLA)*,¹⁰ demonstraram que a diminuição do colesterol com o recurso a estatinas trazia grande benefício para a prevenção primária e secundária da DCV. As estatinas causaram então uma revolução na prevenção e no tratamento da hipercolesterolemia, sendo que, actualmente, são os fármacos mais prescritos para o tratamento desta doença.

As estatinas ou inibidores da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase são potentes inibidores da biossíntese de colesterol a nível hepático, no entanto estudos mais recentes vieram sugerir que estas possuem outros benefícios clínicos independentes da diminuição do colesterol.¹¹⁻¹⁴ Estes efeitos independentes do colesterol, também chamados de efeitos pleiotrópicos, são responsáveis pelos resultados favoráveis que se têm verificado com o uso das estatinas na DCV assim como noutras doenças incluindo neoplasias, degenerescência macular, sépsis, osteoporose, demência, doenças auto-imunes e doença inflamatória intestinal.¹⁵⁻²⁰

Os efeitos pleiotrópicos das estatinas na DCV incluem a diminuição da inflamação vascular, melhoria da função das células endoteliais, diminuição da proliferação e migração das células musculares lisas vasculares, atenuação da remodelagem vascular e miocárdica, inibição da agregação plaquetar e estabilização da placa aterosclerótica.^{16,21,22}

O objectivo desta revisão bibliográfica, é, esclarecer no âmbito da cardiologia, quais os benefícios dos efeitos pleiotrópicos das estatinas bem como o mecanismo pelo qual estas actuam.

Metodologia

A metodologia usada assentou numa pesquisa bibliográfica utilizando bases de dados electrónicas, nomeadamente, a Medline, a Biblioteca do Conhecimento Online, o Current Contents e o Google Scholar, recorrendo à pesquisa de termos MeSH com procura de palavras-chave, nomes de autores e artigos, sem restrição por tipo de artigo ou ano(s) de publicação.

.

Propriedades Farmacocinéticas das Estatinas

O colesterol é um componente essencial do organismo sendo fundamental para a constituição da membrana celular, para a produção de hormonas esteróides e para a formação dos ácidos biliares.²³ Vários estudos demonstraram que, apesar de ter um papel importante, em quantidades excessivas, o colesterol torna-se um factor de risco relevante para a doença cardiovascular.^{3,24-26} Mais de dois terços do colesterol é produzido a nível hepático, sendo o restante ingerido na dieta. Assim, embora uma dieta pobre em gordura possa contribuir para a redução plasmática do colesterol, a inibição da produção hepática deste é o principal mecanismo para a sua redução.²⁷

O colesterol hepático resulta de uma cascata de reacções, sendo que, o passo passível de ser inibido é a conversão de HMG-CoA a ácido mevalónico que é efectuado pela enzima HMG-CoA redutase^{23,28} (Figura 1²⁹). Os inibidores da HMG-CoA redutase ou estatinas foram inicialmente identificados como metabolitos secundários dos fungos. Um dos primeiros inibidores naturais da HMG-CoA redutase foi a mevastatina (ML-236B) que foi isolada do *Penicillium citrinum* por A. Endo *et al* em 1976.³⁰ Posteriormente, em 1979 A.W. Albets *et al*³¹ isolaram a partir do *Aspergillus terreus* metabolitos mais activos como a mevinolina ou a lovastatina. Estes, diferenciavam-se da mevastatina por serem inibidores mais potentes da enzima HMG-CoA redutase e não provocarem toxicidade hepatocelular. A lovastatina tornou-se então a primeira estatina a ser aprovado para uso clínico em humanos.

A estrutura das estatinas pode ser divididas em três partes: um análogo de HMG-CoA, um anel hidrofóbico que auxilia na ligação à enzima HMG-CoA redutase e cadeias laterais,³² sendo estas ultimas responsáveis pela solubilidade e consequentemente pelas suas características farmacocinéticas.³²

As estatinas funcionam inibindo competitivamente e reversivelmente a enzima HMG-CoA redutase, através da ligação do seu análogo de HMG-CoA à parte activa da enzima. Este análogo, juntamente com o grupo hidrofóbico, bloqueiam o acesso do substrato HMG a essa região catalítica,³³ inibindo assim a formação de ácido mevalónico. A forte ligação existente entre as estatinas e HMG-CoA redutase deve-se à presença entre elas de grande número de interacções de Van der Waals que são forças de atracção resultantes da polarização das moléculas.³³

As estatinas, para além de diminuírem a produção de colesterol, também promovem a sua remoção, aumentando o número de receptores hepáticos da lipoproteína de baixa densidade (LDL), que é responsável pelo transporte de colesterol no sangue.³³

Cada estatina tem uma permeabilidade tecidular e uma farmacocinética diferentes,³⁴ podendo dividir-se as estatinas em dois grandes grupos: as lipofílicas como a sinvastatina e a atorvastatina e as hidrofílicas como a pravastatina e a rosuvastatina. Apesar de terem diferentes solubilidades ambas as estatinas são relativamente hepatoselectivas.³² Enquanto as estatinas lipofílicas penetram nos hepatócitos por difusão passiva, as hidrofílicas penetram por difusão activa,³⁵⁻³⁷ tendo estas últimas maior hepatoselectividade.^{36,38,39} Os diferentes grupos de estatinas apresentam diferente potencial para a inibição da enzima HMG-CoA redutase em outras células que não os hepatócitos, sendo que, as estatinas lipofílicas, têm maior facilidade em penetrar as células vasculares do que as estatinas hidrofílicas. Esta diferente permeabilidade tecidular associada a um metabolismo também específico, influencia alguns dos efeitos laterais periféricos das estatinas,⁴⁰ ainda que, ambas possuam efeitos pleiotrópicos idênticos.

Ao inibirem a síntese de ácido mevalónico as estatinas reduzem a síntese de isoprenóides como o farnesil-pirofosfato (FPP) e o geranilgeranil-pirofosfato (GGPP) intermediários na cascata de reacções que resulta na formação de colesterol²³ (Figura 1²⁹). Estes dois isoprenóides promovem a isoprenilação de proteínas com ligações lipofílicas e a sua activação na membrana celular.^{41,42} Duas das famílias de proteínas que necessitam desta isoprenilação para funcionarem correctamente são as Rho e as Ras,⁴³ que são pequenas proteínas G. Esta classe de proteínas está envolvida na transmissão de sinais celulares alterando-as de um estado inactivo, quando ligadas a uma guanosina difosfato (GDP), para um estado activo, quando ligadas a uma guanosina trifosfato (GTP) (Figura 2⁴⁴). O funcionamento destas proteínas permite regular diferentes processos celulares,^{41,42} como o crescimento celular, a morfogenese, a migração celular e a cinética celular. As estatinas ao inibirem a isoprenilação das proteínas Ras e Rho levam à inactivação e à acumulação destas proteínas no citoplasma, contribuindo estas alterações para alguns dos efeitos pleiotrópicos das estatinas, que serão explicados mais adiante neste trabalho.⁴⁵

As estatinas mostraram também que interferem com o antigénio associado à função linfocitária 1 (LFA-1), sendo este mecanismo independente da síntese de ácido mevalónico. O LFA-1 pertence a uma família de integrinas que tem um papel fundamental no deslocamento dos linfócitos e na activação de células T. A ligação da estatina à LFA-1 inibe a interacção desta com a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1), inibindo assim a activação e migração dos linfócitos para os tecidos.⁴⁶

As estatinas e seus principais pontos de acção

Estatinas e as proteínas Rho

O grupo de proteínas Rho GTPase é constituído por diferentes sub-famílias como a RhoA, Rac1 e Cdc42, sendo todas estas isopreniladas pela GGPP. Cada um destes membros tem uma função específica na célula, sendo essenciais para a forma, motilidade, secreção e proliferação desta. Pode haver no entanto sobreposição destas funções.⁴³

Os efeitos biológicos provocados pelas proteínas RhoA são mediados pelos seus efectores a jusante.⁴⁷ O mais estudado destes efectores é a Rho cinase (ROCK) que actua no citoesqueleto celular inibindo o local de ligação da fosfatase às cadeias leves de miosina (MLC). Ao inibir esta fosfatase, a ROCK aumenta a fosforilação das MLC amplificando a contractilidade da miosina, que leva à instabilidade das fibras e à formação de adesões focais.⁴⁸ A actividade da ROCK está normalmente elevada em distúrbios cardiovasculares.⁴⁹ Assim, as estatinas ao inibirem a isoprenilação da Rho diminuem a activação da ROCK¹⁶ o que afecta pelo menos parcialmente a contracção da musculatura lisa vascular.^{48,50} Outros processos envolvidos nesta via Rho/ROCK são a angiogénese,⁵¹ a hipertensão arterial,⁵⁰ a hipertrofia cardíaca,⁵² a fibrose perivascular⁵³ e a hipertensão pulmonar.⁵⁴ De facto foram encontrados efeitos idênticos aos das estatinas com a utilização de inibidores da ROCK, sendo que estes preveniam o vasoespasmó cerebral após uma hemorragia subaracnoideia⁵⁵ e evitavam a remodelação arterial após uma lesão vascular.⁵⁶ Vários estudos, sugerem então, que muitos dos efeitos pleiotrópicos das estatinas devem-se à inibição da via Rho/ROCK⁵⁷⁻⁵⁹ (Figura 2⁴⁴).

A cascata de reacções em que a Rac está envolvida possui duas importantes acções: a remodelagem do citoesqueleto e a formação de espécies reactivas do oxigénio (ROS). A Rac1 influencia múltiplas proteínas da remodelagem do citoesqueleto como as proteínas da síndrome de Wiskott-Aldrich, proteínas activadoras da calmodulina e a proteína cinase p21. A Rac1, ao ligar-se à GTP e migrar para a membrana celular, também activa a nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidase com a consequente produção de ROS (Figura 1²⁹). Esta acção é desencadeada pela Rac1 na presença de citocinas inflamatórias e de factores de crescimento.⁶⁰ As estatinas ao

inibirem a actividade da Rac1 e consequentemente da NADPH oxidase têm um papel anti-oxidante importante, diminuindo a produção de ROS induzidas pela angiotensina II e evitando a hipertrofia das células do músculo liso vascular (VSMC) e do miocárdio.^{61,62} A activação de Rac1 na parede vascular está também associada com a aterosclerose, proliferação da neointima, hipertrofia cardíaca e disfunção endotelial.⁶³ Assim a inibição da Rac1 também contribui para alguns dos efeitos pleiotrópicos das estatinas.⁶⁴

Estatinas e as proteínas Ras

Ao contrário do que acontece com as proteínas Rho, as proteínas Ras são isopreniladas pela FPP (Figura 1²⁹). Vários estudos *in vitro*^{65,66} e *in vivo* com ratos,⁶⁷ demonstraram que as proteínas Ras são relevantes para a migração e proliferação das VSMC estimuladas pelo factor de crescimento derivado das plaquetas (PDGF).⁶⁵⁻⁶⁸ Estes estudos vêm evidenciar que a inibição da proteína RAS pode diminuir a progressão da aterosclerose e hiperplasia da neointima.

Estatinas e os receptores activados pelos proliferadores peroxissomais

Os receptores activados pelos proliferadores peroxissomais (PPARs) fazem parte da família dos receptores nucleares contendo três isoformas, PPAR α , PPAR β e PPAR γ . Estes ligam-se através do receptor retinoide X a regiões específicas do ADN.⁶⁹ Os PPARs têm um papel importante na homeostase assim como na regulação da resposta inflamatória^{70,71} e estudos recentes revelam que estes podem igualmente contribuir para os efeitos pleiotrópicos das estatinas. As estatinas através dos PPAR α e PPAR γ induzem o aumento da transcrição dos PPAR γ , inibem a indução lipopolissacarídea do factor de necrose tumoral α (TNF α) e a proteína quimioattractiva do monócito tipo 1 (MCP-1). Estas diminuem ainda a actividade transcricional do factor de transcrição nuclear kappa B (NF κ B) e da proteína activadora 1 (AP1).⁷² Assim, através da activação dos PPAR γ , as estatinas promovem a estabilização da placa aterosclerótica e juntamente com outros fármacos agonistas destes receptores, aparentemente promovem a regressão da placa.^{73,74} As estatinas também evidenciam actividade anti-inflamatória inibindo a

expressão de genes inflamatórios induzida pelos lipopolissacarídeos (LPS) através de um mecanismo dependente da proteína-quinase C (PKC) dos PPAR α .^{75,76}

Efeitos pleiotrópicos das estatinas

As estatinas e o endotélio vascular

As células endoteliais formam uma barreira entre o sangue e a restante parede do vaso.^{77,78} Estas representam um sistema metabólico activo e além do papel de barreira respondem a diversos estímulos através de mecanismos autócrinos e parácrinos. Fisiologicamente as células endoteliais estão envolvidas em diversos processos que incluem a vasoconstrição, a vasodilatação, formação de trombos, fibrinólise, angiogénese, inflamação vascular e produção de componentes da matriz extracelular.^{77,78} A lesão destas células é um dos factores iniciadores da aterosclerose e da hiperplasia da neointima.^{77,79}

Um dos principais marcadores da função do endotélio é o óxido nítrico (NO) produzido pela sintetase das células endoteliais (eNOS). A diminuição da biodisponibilidade deste é indicativa da existência de disfunção endotelial, sendo uma das manifestações precoces da aterosclerose.^{80,81} O aumento das ROS é o principal mecanismo que leva à diminuição da produção e biodisponibilidade de NO.^{82,83} A actividade anti-aterogénica do NO resulta do facto de este provocar vasodilatação,⁸⁴ promover a angiogénese, inibir a agregação plaquetar⁸⁵ e diminuir a proliferação de VSMC e a interacção entre leucócitos e o endotélio.^{86,87}

As estatinas têm demonstrado melhorias na função endotelial por mecanismos dependentes e independentes do colesterol. O mecanismo dependente do colesterol resulta da diminuição deste a nível sanguíneo, melhorando a actividade vasomotora endotélio-dependente.⁸⁸ Por outro lado, muitos estudos têm demonstrado que as estatinas melhoram a função endotelial mesmo antes de haver uma diminuição significativa do colesterol.^{89,90} Estes efeitos têm sido relacionados com o aumento do NO.^{91,92}

As estatinas aumentam o NO por diversos mecanismos (Figura 3⁴⁴). O primeiro mecanismo resulta do facto das estatinas estabilizarem o mRNA do eNOS através da via Rho/ROCK, aumentando a expressão de eNOS.^{57,93} Apesar dos efeitos das estatinas na isoprenilação da Ras e Rho ser revertido pela presença de FPP e GGPP, os efeitos das estatinas no eNOS apenas é revertido na presença de GGPP, indicando que a via Rho/ROCK é a principal via de regulação do eNOS.⁹¹

O segundo mecanismo pelo qual as estatinas aumentam a expressão de eNOS é através da proteína serina-treonina cinase Akt (Figura 3⁴⁴). As estatinas promovem a activação da Akt nas células endoteliais através da via de sinalização da fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K), levando à fosforilação do eNOS com aumento do NO.⁹⁴ O efeito das estatinas sobre a Akt parece ser específico das células endoteliais, uma vez que não se verifica a activação da Akt nas células musculares lisas cardíacas.⁹⁴ Apesar de doses elevadas de estatinas promoverem o aumento de NO, estudos em animais revelaram que as estatinas em dose muito elevadas inibem a isoprenilação de muitas outras proteínas tendo efeitos tóxicos sobre as células endoteliais e inibindo a angiogénese.^{95,96} As estatinas possuem então uma acção bifásica na angiogénese.⁹⁶

O terceiro mecanismo pelo qual as estatinas regulam a actividade da eNOS é através dos seus efeitos na caveolina-1 (Figura 3⁴⁴). A caveolina-1 é uma proteína da membrana celular que se liga à eNOS inibindo a produção do NO.⁹⁷ Estudos demonstram que as estatinas reduzem a abundância de caveolina-1 na membrana celular, aumentando a quantidade de eNOS com o consequente aumento de NO.^{98,99}

O último dos efeitos benéficos das estatinas nas células endoteliais resulta da sua acção sobre as células endoteliais progenitoras (EPC). As estatinas através da via PI3K/Akt aumentam a mobilização, proliferação, migração e sobrevivência das EPC que provêm da medula óssea.^{100,101} Estas células aumentam a neovascularização induzida pela isquemia, aceleram a endotelização dos vasos após lesão e melhoram a função cardíaca após a isquemia. Estudos mostram que estes efeitos na angiogénese são verificados com doses baixas de estatinas.^{96,101} Num ensaio clínico, após administração durante uma semana de 40mg de atorvastatina em indivíduos com doença coronária verificou-se um aumento de 1,5 vezes das EPC.¹⁰² Estes mesmos efeitos foram verificados com outras estatinas como a sinvastatina e a rosuvastatina.¹⁰³

As estatinas e as células musculares lisas vasculares

A proliferação das VSMC é uma etapa chave para a patogénese de diversas doenças vascular proliferativas como a re-estenose pós angioplastia, a aterosclerose de órgãos transplantados e oclusão do enxerto venoso.¹⁰⁴ Estudos clínicos mostraram que as estatinas diminuem a proliferação de VSMC mediada por citocinas nas artérias

coronárias, reduzem a acumulação de leucócitos, promovem a apoptose de células endoteliais lesadas e ainda inibem a proliferação patológica que se verifica na arteriopatia do transplante.¹⁰⁵⁻¹⁰⁸ Uma vez que esta arteriopatia está mais dependente de mecanismos imunológicos do que do aumento dos lípidos dá um maior relevo aos efeitos pleiotrópicos das estatinas.

As estatinas inibem a proliferação de VSMC pela inibição da isoprenilação das proteínas Ras e Rho,¹⁰⁹ inibindo a continuação do ciclo celular destas células e diminuindo os PDGF, que induzem a síntese de ADN das VSMC.^{110,111} O efeito predominante das estatinas sobre as VSMC parece ser realizado através das proteínas Rho, uma vez que a inibição da proliferação destas células é revertida pelo GGPP mas não pelo FPP ou pelo colesterol LDL.⁵⁸ Estudos demonstram que a inibição directa das Rho pela tranferase C3 do *Clostridium botulinum* estimula a proteína cinase p27^{Kip1} e inibe a proliferação de células musculares lisas estimuladas pelos PDGF.^{91,92} Um outro estudo demonstrou que a atorvastatina inibiu a mitogénese e migração destas células nas células musculares lisas da artéria pulmonar ao inibir a GTP-RhoA.¹¹²

Outro mecanismo envolvido na inibição da proliferação das VSMC pelas estatinas é através do seu efeito anti-oxidante. Ao inibirem a produção de ROS as estatinas inibem a proliferação das VSMC.^{93,94}

As estatinas e o miocárdio

A hipertrofia cardíaca é uma resposta adaptativa do coração à sobrecarga de pressão. Inicialmente pensava-se que as proteínas Ras eram as únicas envolvidas nesta forma de remodelagem cardíaca,¹¹³ mas posteriormente verificou-se que a família de proteínas RhoA/Rac/cdc42 também participavam neste processo.^{114,115} Estudos clínicos em animais demonstraram que secundariamente à sobrecarga de pressão, ao estiramento nas células do miocárdio e ao aumento de angiotensina II à produção de ROS dependente da NADPH oxidase.^{116,117} Uma vez que a Rac1 é necessária para a actividade da NADPH oxidase e a hipertrofia cardíaca é mediada em parte pelo stress oxidativo do miocárdio, é provável que as estatinas inibam a hipertrofia cardíaca através de um processo antioxidante inibindo a isoprenilação da Rac1. Um ensaio clínico veio demonstrar que o tratamento oral com estatinas em pacientes com insuficiência cardíaca

diminuía a função da Rac1 e reduzia a actividade da NADPH oxidase com diminuição das ROS.¹¹⁸ Este achado clínico dá bastante relevo ao papel das estatinas no impedimento do desenvolvimento da hipertrofia cardíaca.

As estatinas também exercem uma função protectora contra a lesão isquémica no miocárdio. Estudos em ratos, demonstraram que as estatinas diminuía significativamente a disfunção cardíaca e melhoravam o fluxo coronário.^{119,120} Um dos principais mecanismos pelo qual as estatinas provocam este efeito protector é através do aumento da disponibilidade de NO. O NO promove a vasodilatação aumentando o fluxo de sanguíneo do miocárdio em situações de hipoxia e inibe a activação plaquetária diminuindo a agregação nas regiões vasculares lesadas.^{121,122} Um estudo demonstrou ainda que a sinvastatina, através de um processo dependente NO, preserva o potencial de membrana mitocondrial nos miócitos cardíacos em situações de stress oxidativo.¹²³

Uma sequela comum da hipertrofia cardíaca avançada é o desenvolvimento de insuficiência cardíaca congestiva (CHF). Vários estudos em animais com hipertrofia e insuficiência cardíaca provaram que as estatinas ajudam a preservar a função cardíaca destes animais.^{124,125} Além disso as estatinas melhoram a função endotelial e aumentam o tónus vascular que caracteriza os doentes com insuficiência cardíaca.¹²⁶ Num ensaio clínico realizado por Node K. *et al* em 2003¹²⁷ doentes com cardiomiopatia dilatada sintomática não isquémica foram divididos aleatoriamente em dois grupos. Embora os dois grupos recebessem tratamento para a insuficiência cardíaca com beta-bloqueadores e inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA), durante 14 semanas, um dos grupos foi medicado com estatinas, enquanto o outro foi medicado com placebo.¹²⁷ Os resultados obtidos por este ensaio clínico foram deveras interessantes. Embora os doentes que receberam as estatinas tenham apresentado apenas uma redução modesta do nível de colesterol sérico em comparação com o grupo que recebeu placebo, os doentes demonstraram uma melhoria significativa na tolerância ao exercício físico e consequente, melhoria na classificação funcional segundo a New York Heart Association (NYHA) em comparação com os doentes que receberam placebo. Esta melhoria sintomática correspondeu a um aumento da fracção de ejeção do ventrículo esquerdo no grupo medicado com estatinas. As melhorias alcançadas não podem ser apenas atribuídas às estatinas uma vez que os doentes fizeram concomitante beta-bloqueadores e IECA, no entanto foi possível constatar que com a adição de estatinas ocorreu uma melhoria evidente da função cardíaca. Para além disto no grupo medicado

com estatinas verificou-se uma diminuição da concentração do TNF α , da interleucina-6 (IL-6) e do péptido natriurético cerebral (BNP). Este estudo permite concluir que a terapia a curto prazo com as estatinas melhora a função cardíaca, os desequilíbrios neuro-hormonais e os sintomas associados à cardiomiopatia dilatada de origem ideopática e reforça a ideia de que estes fármacos têm benefícios clínicos em doentes com insuficiência cardíaca, independentemente dos valores de colesterol ou da existência de doença aterosclerótica.¹²⁷

As estatinas e as plaquetas

As plaquetas têm um papel crucial na síndrome coronária aguda, estando estas associadas à formação de trombos murais no local de ruptura da placa aterosclerótica e nas regiões vasculares lesadas.¹²⁸ Após a adesão à região lesada ocorre a activação das plaquetas com estimulação da proliferação e migração das VSMC para o local da lesão através da secreção de vários factores de crescimento e citocinas.¹²⁹ Além disto as plaquetas promovem a acumulação de colesterol nas células das paredes arteriais quer directa, ou indirectamente, através do seu efeito no aumento de actividade dos receptores de LDL.¹³⁰ Por outro lado, o LDL e as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) aumentam também a activação e a agregação plaquetária, sendo esta agregação ainda maior em doentes hipercolesterolémicos.¹²⁹ Apesar de que as estatinas possam diminuir a reactividade plaquetária reduzindo os níveis de colesterol, estudos recentes sugerem que alguns desses efeitos podem não ser dependentes dos valores de colesterol. Por exemplo no recente ensaio clínico *Justification for the Use of Statin in Primary Prevention* (JUPITER),¹⁶⁶ os doentes tratados com rosuvastatina demonstraram uma redução de tromboembolismo venoso,¹³¹ sendo este efeito provavelmente independente do colesterol uma vez que, a hipercolesterolemia não é um factor de risco para esta patologia.

Na superfície das plaquetas, as glicoproteínas da membrana CD62 e CD63 servem como marcadores de activação, estando estas proteínas expressas 10 vezes mais nas plaquetas activadas do que nas quiescentes.¹³² Huhle *et al* demonstraram através de várias experiências em doentes hipercolesterolémicos que, ambas as glicoproteínas

diminuíam a sua expressão na superfície das plaquetas após o tratamento com fluvastatina.¹³³

A via pela qual as estatinas diminuem a agregação plaquetária ainda não está bem esclarecida, no entanto, estudos recentes demonstraram que esta agregação é estimulada pela diminuição da produção de NO pelas plaquetas e pelo aumento de stress oxidativo, do colesterol e de receptores de LDL nas plaquetas.^{134,135,136} Assim além das estatinas diminuírem o colesterol circulante, melhoram a função plaquetária aumentando o NO, reduzindo os ROS e ainda inibindo a expressão de factores tecidulares dos macrófagos, reduzindo o potencial trombótico da parede vascular.¹³⁷ Um estudo recente sugere que os PPARs também podem mediar a inibição da agregação plaquetária provocada pelas estatinas e pelos fibratos.¹³⁸

Efeitos das estatinas nas doenças cardiovasculares

Estatinas e a aterosclerose

A aterosclerose é um processo inflamatório complexo mediado por uma inflamação excessiva e um acúmulo de lípidos.^{139,140} Na presença de monócitos, macrófagos e linfócitos T, são secretadas citocinas inflamatórias que provocam alteração da função endotelial, induzem a proliferação de células musculares lisas, degradam o colagénio e promovem a trombose.¹²⁸ O passo inicial na aterogénese é caracterizado por uma resposta inflamatória e envolve o recrutamento de monócitos para a parede vascular, com a posterior passagem destes para o espaço subendotelial.¹⁴¹ Nos últimos anos as estatinas têm confirmado o seu efeito modelador da acção imunológica, exercendo efeitos anti-inflamatórios na parede vascular e diminuindo o número de células inflamatórias na aterosclerose.¹⁴² Este mecanismo anti-inflamatório resulta em parte da sua capacidade em diminuir a expressão de moléculas de adesão endotelial como a ICAM-1, a molécula de adesão vascular 1 (VCAM-1) e a E-selectina.¹⁴³⁻¹⁴⁵ Além disso, ensaios clínicos demonstraram que as estatinas atenuam a expressão da P-selectina e a adesão de leucócitos em animais normocolesterolémicos através do aumento de eNOS.^{146,147}

Os monócitos após penetrarem no espaço subendotelial adquirem características de macrófagos e expressam receptores “scavenger”, que são específicos para a captação de LDL oxidado. Ao captarem estas lipoproteínas, os macrófagos transformam-se em células espumosas, que são células com grande quantidade de gordura, principalmente sobre a forma de colesterol livre e estratificado.¹⁴¹ Estudos demonstram que as estatinas inibem a oxidação de LDL independentemente dos níveis de lípidos.¹⁴⁸ Esta inibição é demonstrada pelo aumento da enzima anti-oxidante catalase na aorta, bem como pela redução da expressão das subunidades p22phox e nox1 da NADPH oxidase em ratos, após a administração de atorvastatina.¹⁴⁸

Durante a aterogénese os linfócitos T também desempenham um papel importante no mecanismo patológico. A activação destes e o controlo da resposta imunológica é mediada pelo complexo principal de histocompatibilidade tipo II (MHC-II) e pelo mecanismo de interacção CD40/CD40L. Em condições fisiológicas as células apresentadoras de antígenos expressam MHC-II constitutivamente, enquanto que,

perante estímulos inflamatórios, o aumento de interferão- γ (INF- γ) induz o incremento da expressão de MHC-II em várias células como as endoteliais e os monócitos. Um importante regulador desta via é através do transactivador de classe II (CIITA). As estatinas através da inibição do promotor IV do CIITA reduzem a expressão de MHC-II em diversas células, diminuindo a activação dos linfócitos T.¹⁴⁹ Para além disso, as estatinas ao interferirem com LFA-1, além de inibirem a activação, também inibem a migração dos linfócitos T.¹⁵⁰

A lesão aterosclerótica contém material altamente trombogénico no centro lipídico, estando este centro separado da corrente sanguínea por uma cápsula fibrosa.¹⁵¹ As fissuras, a erosão e a ulceração da cápsula fibrosa, conduzem muitas vezes à ruptura da placa aterosclerótica, com activação das plaquetas e da cascata de coagulação. Esta ruptura da cápsula leva à formação de trombos que podem provocar oclusão vascular parcial ou total,¹⁵² sendo a principal causa da síndrome coronária aguda.^{128,153} A redução do colesterol provocada pelas estatinas contribui para a estabilização da placa aterosclerótica, reduzindo o tamanho desta e modificando as propriedades físicas e químicas do centro lipídico.^{154,155}

O outro mecanismo pelo qual as estatinas actuam na aterosclerose é através da redução da acumulação de macrófagos nas lesões arterioscleróticas e a inibição da produção de metaloproteinases da matriz (MMP) e de factor tecidual (TF) pelos macrófagos.^{137,156} As MMP são enzimas proteolíticas que enfraquecem a cápsula fibrosa através da degradação do colagénio¹⁵⁶ e o TF é uma molécula pró-trombótica que também causa instabilidade na placa aterosclerótica.^{137,157,158} As estatinas inibem a expressão de MMP e de TF através de mecanismos dependentes e independentes do colesterol.^{155,159} Os mecanismos independentes do colesterol são mediados por uma redução conjunta de lípidos, macrófagos e MMP.¹⁶⁰

Este conjunto de efeitos provocados pelas estatinas, podem explicar a redução de síndromes coronárias agudas em doentes com alto risco para isquemia coronária recorrente, como foi verificado em ensaios clínicos como o *Myocardial Ischemia Reduction with Aggressive Cholesterol Lowering* (MIRACL)¹⁶¹ e o *Prevastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy and Thrombolysis in Myocardial Infarction* (PROVE-IT).¹⁶²

Estatinas e o AVC

Apesar da relação entre os níveis de colesterol e a doença cerebrovascular ainda permanecer controversa,^{91,130} as estatinas tornaram-se uma das terapias mais importantes para a prevenção e tratamento do AVC. O efeito das estatinas sobre o AVC deve resultar das acções promovidas por estes fármacos sobre a vasculatura. Estudos demonstraram que outros fármacos redutores do colesterol não tinham efeitos benéficos na redução da incidência de AVC, o que sugere que este efeito das estatinas sobre esta doença seja independente das suas acções sobre o colesterol.^{132,163}

Um possível alvo das estatinas na prevenção de AVC pode ser o seu efeito sobre a eNOS. Estudos em ratos demonstraram que estes quando pré-tratados com estatinas tinham um melhor fluxo cerebral e regiões de enfarte cerebral mais pequenas após a oclusão cerebrovascular.^{164,165} Em contraste, nenhum aumento no fluxo sanguíneo cerebral ou neuroprotecção foi verificado após administrar estatinas em ratos que possuíam uma mutação e não expressavam a eNOS.¹⁶⁴ Estes achados indicam que o aumento da eNOS deve ser o principal efeito das estatinas na neuroprotecção.¹⁶⁴

Evidência de efeitos pleiotrópicos das estatinas em ensaios clínicos

Tradicionalmente tem sido assumido que os efeitos benéficos das estatinas estão predominantemente, subjacentes à redução dos níveis de colesterol que induzem. Vários ensaios clínicos vieram demonstrar entretanto que os efeitos destes fármacos podem ir muito para além da diminuição do colesterol, sendo muitos desses efeitos independentes deste fenómeno. Recentemente o ensaio clínico JUPITER,¹⁶⁶ demonstrou que as estatinas podem ser benéficas para a prevenção primária de doença cardiovascular em pacientes sem factores de risco cardiovasculares ou hipercolesterolemia e que têm uma proteína C-reativa de alta sensibilidade (hsPCR) aumentada.¹⁶⁶ Este estudo avaliou os efeitos da rosuvastatina (20mg/dia) na redução de eventos cardiovasculares em indivíduos com idade média de 66 anos, aparentemente saudáveis e com níveis de LDL <130mg/dl, mas com hsPCR>2mg/L.¹⁶⁷ A análise deste estudo demonstrou que os doentes que estavam a fazer rosuvastatina tinham benefícios clínicos quando se verificava uma diminuição dos valores de LDL e de hsPCR.¹⁶⁸ Estes resultados reforçam a importância dos componentes inflamatórios na doença cardiovascular, mas também sugerem e sustentam que as estatinas têm efeitos não dependentes do colesterol, uma vez que a redução de hsPCR pela rosuvastatina, não estava relacionada com a diminuição de colesterol LDL. Como consequência dos resultados deste estudo, em Fevereiro de 2010, a FDA aprovou a rosuvastatina para a prevenção primária da doença cardiovascular.

Curiosamente resultados recentes do ensaio clínico *Multicenter Coronary Atherosclerosis Study Measuring Effects of Rosuvastatin Using Intravascular Ultrasound in Japanese Subjects (COSMOS)*¹⁶⁹ confirmaram os achados obtidos no JUPITER. Usando ultra-sons intravasculares para investigar os efeitos da rosuvastatina na aterosclerose coronária em pacientes com doença cardíaca isquémica, os autores verificaram que o tratamento com rosuvastatina reduziu significativamente o volume da placa aterosclerótica nas coronárias e aumentou o volume do lúmen vascular. Não houve, porém, correlação significativa entre a redução de LDL no plasma e a redução da placa, apoiando uma vez mais a ideia de que as estatinas têm efeitos para além da diminuição de colesterol.¹⁶⁹

Outros dois ensaios clínicos com ezetimiba vieram reforçar ainda mais a ideia dos efeitos pleiotrópicos das estatinas. A ezetimiba actua diminuindo a absorção

intestinal de colesterol e pode ser usada sozinha ou em combinação com as estatinas para diminuir os níveis plasmáticos de colesterol.^{170,171} Estes estudos demonstraram que as estatinas tinham mais efeitos cardioprotectores que a ezetimiba, apesar de ambos os fármacos provocarem uma redução idêntica nos níveis de colesterol. No ensaio clínico *Ezetimibe and Simvastatin in Hypercholesterolemia Enhances Atherosclerosis Regression* (ENHANCE),¹⁷² um estudo randomizado e duplamente cego, foram comparados dois grupos. Um foi medicado com ezetimiba+sinvastatina (10mg+80mg) e o outro foi apenas medicado com sinvastatina (80mg). A terapia combinada não reduziu a espessura média da íntima vascular da artéria carótida em pacientes com hipercolesterolemia familiar, apesar de ter reduzido significativamente os valores de LDL e da PCR.¹⁷³ Dois outros estudos recentes demonstraram que altas doses de estatinas em monoterapia tiveram uma melhoria superior no fluxo sanguíneo vascular do que a administração de baixas doses de estatinas associada a ezetimiba. Em ambos os grupos verificaram-se reduções idênticas no valor de LDL.^{174,175} Actualmente ainda decorre o ensaio clínico *Improved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial* (IMPROVE-IT), em que se compara os efeitos do Vytorin (ezetimiba mais sinvastatina) com a sinvastatina em monoterapia, em doentes com síndromes coronárias agudas.

Recentemente, uma meta-análise de vários ensaios clínicos com estatinas demonstrou que as estas diminuía significativamente o risco de incidência ou recorrência de fibrilação auricular (FA) em doentes com história prévia de FA, cirurgia cardíaca ou síndrome coronária aguda.¹⁷⁶ Esta análise incluiu seis estudos com um total de 3.557 doentes. Curiosamente foi verificado que o efeito das estatinas era maior na prevenção de recorrência de FA do que na prevenção primária de FA. O mecanismo pelo qual as estatinas diminuem a incidência de FA poderá ser relacionado com a interacção destas com o sistema renina-angiotensina. Alguns estudos têm demonstrado que a angiotensina II promove o crescimento do miócito cardíaco e promove a proliferação de VSMC e de fibroblastos, resultando em fibrose e remodelação das aurículas o que poderia provocar esta arritmia cardíaca.¹⁷⁷ Ao mesmo tempo as estatinas têm demonstrado diminuir o stress oxidativo, diminuindo a activação do sistema renina-angiotensina,¹⁷⁸ o que pode em parte, explicar o possível efeito anti-arrítmico das estatinas na FA.¹⁷⁹ As estatinas também têm sido relacionadas com a modulação do

sistema nervoso autonómico, o que pode explicar o processo protector destas nos doentes em pós-operatório quando há um aumento da actividade simpática.¹⁸⁰

Outros ensaios clínicos não relacionados com doenças cardiovasculares chamam a atenção para os efeitos benéficos das estatinas no tratamento da doença renal crónica,^{181,182} das doenças reumatológicas¹⁸³ e das doenças neurológicas como a esclerose múltipla^{184,185} ou o Alzheimer¹⁸⁶ áreas que não serão aprofundadas tendo em conta o objectivo traçado para este trabalho.

Conclusão

As estatinas são os fármacos mais prescritos nos doentes com hipercolesterolemia, no entanto os seus efeitos vão muito para além da simples redução dos níveis plasmáticos de colesterol. Os efeitos pleiotrópicos das estatinas na doença cardiovascular são secundários a variados processos quer a nível molecular como celular. A maioria destes efeitos resulta da inibição da síntese de isoprenóides, com a consequente diminuição da via de sinalização das pequenas GTPases. Têm surgido no entanto novos mecanismos que explicam também estes efeitos pleiotrópicos.

Os efeitos pleiotrópicos das estatinas foram um dia caracterizados como bons de mais para serem verdade e ainda continuam a ser investigados. Esses efeitos incluem a melhoria da função vascular, o aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico, efeitos anti-oxidantes, efeitos anti-inflamatórios, a melhoria da resposta imunológica, a inibição da ativação e agregação das plaquetas, a diminuição da migração e proliferação das células musculares lisas vasculares e a estabilização da placa arteriosclerótica.

Ensaio clínico recente como o JUPITER, vieram confirmar o potencial benefício do uso das estatinas na prevenção primária da doença cardiovascular, tendo sido inclusive interrompido mais cedo que o inicialmente previsto, uma vez que os pacientes tratados com rosuvastatina mostravam uma redução significativa da morbilidade e mortalidade cardiovascular.

Os efeitos pleiotrópicos benéficos das estatinas têm sido associados a um número cada vez maior de doenças cardíacas e não cardíacas, sendo no entanto necessários mais estudos e investigação nesta área para confirmar de forma definitiva o seu real potencial nessas doenças.

Bibliografia

1. Lee RT, et al. (1997) Molecular biology of atherosclerosis. *Int. J. Cardiol.* 62 (Suppl 2):S23–29.
2. D’Agostino RB, et al (1990) Changes in risk factors and the decline in mortality from cardiovascular disease. The Framingham Heart Study. *New Engl. J. Med.* 322:1635–41.
3. Gordon T, Kannel WB (1971) Premature mortality from coronary heart disease. The Framingham Study. *JAMA* 215:1617–25.
4. (1994) Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 344:1383–89.
5. Moye LA, et al. (1996) The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators. *New Engl. J. Med.* 335:1001–9.
6. (1998) Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group. *New Engl. J. Med.* 339:1349–57.
7. Cobbe SM, et al. (1995) Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *New Engl. J. Med.* 333:1301–7.
8. Clearfield M, et al. (1998) Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study. *JAMA* 279:1615–22.
9. (2002) MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with Simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 360:7–22.
10. Dahlof B, et al (2003) 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* 361:1149–58.

11. Fazio S, et al (2000) Current perspectives on statins. *Circulation* 101: 207-13.
12. Palinski W (2001) New evidence for beneficial effects of statins unrelated to lipid lowering. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21:3 – 5.
13. Liao JK, et al. (2008) Pleiotropic effects of statin therapy: Molecular mechanisms and clinical results. *Trends Mol Med* 14: 37 – 44.
14. Liao JK, Zhou Q (2009) Statins and cardiovascular diseases: From cholesterol lowering to pleiotropy. *Curr Pharm* 15:467 – 478.
15. Biskobing DM, et al. (2002) Novel therapeutic options for osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol* 14(4):447-452.
16. Laufs U, Liao JK (2005) Pleiotropic effects of statins. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 45:89-118.
17. Almuti K, et al (2006) Effects of statins beyond lipid lowering: Potential for clinical benefits. *Int J Cardiol* 109(1):7-15.
18. Rogers SL, Wong TY (2007) Statins and age-related macular degeneration: time for a randomized controlled trial? *Am J Ophthalmol* 144(1):117-119.
19. Kuoppala J, et al (2008) Statins and cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer* 44(15):2122-2132.
20. Falagas M, et al (2008) Statins for infection and sepsis: a systematic review of the clinical evidence. *J Antimicrob Chemother* 61(4):774-785.
21. Liao JK, Takemoto M (2001) Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21(11):1712-1719.
22. Calabro P, Yeh ETH (2005) The pleiotropic effects of statins. *Curr Opin Cardiol* 20(6):541-547.
23. Brown MS, Goldstein JL (1990) Regulation of the mevalonate pathway. *Nature* 343:425–30.
24. Castelli WP, et al (1971) Serum cholesterol, lipoproteins, and the risk of coronary heart disease. The Framingham study. *Ann. Intern Med* 74:1–12.
25. (1982) Multiple risk factor intervention trial. Risk factor changes and mortality results. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. *JAMA* 248:1465–77.

26. Cohen JD, et al. (1989) Serum cholesterol levels and six-year mortality from stroke in 350,977 men screened for the multiple risk factor intervention trial. *New Engl. J. Med.* 320:904–10.
27. Panel NCEPE (2002) Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *Natl. Heart Lung Blood Inst. Natl. Inst. Health* 02-5215:3143–421.
28. Mitschelen JJ, et al. (1976) Regulation of HMG-CoA reductase. *Adv. Lipid Res.* 14:1–74.
29. Gahtan V, et al. (2010) Statin Therapy–Part I: The Pleiotropic Effects of Statins in Cardiovascular Disease. *Vascular and Endovascular Surgery* 44(4):241-51.
30. Endo A, et al. (1976) ML-236A, ML-236B, and ML-236C, new inhibitors of cholesterologenesis produced by *Penicillium citrinium*. *J. Antibiot. (Tokyo)* 29:1346–48.
31. Alberts AW, et al. (1980) Mevinolin: a highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:3957–61.
32. Schachter M. (2005) Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: an update. *Fundam Clin Pharmacol* 19(1):117-125.
33. Deisenhofer J, Istvan ES (2001) Structural mechanism for statin inhibition of HMGCoA reductase. *Science* 292:1160–64.
34. Illingworth DR, Tobert JA (2001) HMG-CoA reductase inhibitors. *Adv Protein Chem* 56:77 – 114.
35. Rosenson RS, Tangney CC (1998) Antiatherothrombotic properties of statins: implications for cardiovascular event reduction. *JAMA* 279(20):1643-1650.
36. Hamelin B, Turgeon J (1998) Hydrophilicity/lipophilicity: relevance for the pharmacology and clinical effects of HMG-CoA reductase inhibitors. *Trends Pharmacol Sci.* 19(1):26-37.
37. Higaki K, et al. (2003) Uptake of rosuvastatin by isolated rat hepatocytes: comparison with pravastatin. *Xenobiotica* 33(4):379-388.
38. Hummelsiep S, Ziegler K (1993) Hepatoselective carrier-mediated sodium-independent uptake of pravastatin and pravastatin-lactone. *Biochim Biophys Acta* 1153(1):23-33.

39. Cohen LH, et al. (1995) Different effects of 3-hydroxy-3-methylglutarylcoenzyme A reductase inhibitors on sterol synthesis in various human cells types. *Biochim Biophys Acta* 1254(1):105-111.
40. Alberts AW, et al. (1989) Tissue selectivity of the cholesterol-lowering agents lovastatin, simvastatin and pravastatin in rats in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 158: 667 – 675.
41. Adamson P, et al. (1992) Post-translational modifications of p21rho proteins. *J Biol Chem* 267(28):20033-20038.
42. Mirshahi F, et al. (2002) Cerivastatin, an inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase, inhibits endothelial cell proliferation induced by angiogenic factors in vitro and angiogenesis in in vivo models. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 22(4):623-629.
43. D’Souza-Schorey C, Van Aelst L (1997) Rho GTPases and signaling networks. *Genes Dev.* 11:2295–322.
44. Liao JK, Zhou Q (2010) Pleiotropic Effects of Statins – Basic Research and Clinical Perspectives. *Circ. J.* 74:818-826
45. Autieri M, et al. (2007) Small GTP-binding proteins and mitogen-activated protein kinases as promising therapeutic targets of vascular remodeling. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 16(2):111-115.
46. Brinkmann V, et al. (2001) Statins selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site. *Nat Med* 7: 687-92.
47. Ridley AJ, Riento K (2003) Rocks: multifunctional kinases in cell behaviour. *Nat Rev Mol Cell Biol* 4: 446-56.
48. Burridge K, Wennerberg K (2004) Rho and Rac take center stage. *Cell* 116:167–179.
49. Cannon CP, et al. (2004) Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N. Engl. J. Med* 350:1495–1504.
50. Uehata M, et al. (1997) Calcium sensitization of smooth muscle mediated by a Rho-associated protein kinase in hypertension. *Nature* 389:990–994.
51. Sordella R, et al. (2003) Modulation of Rho GTPase signaling regulates a switch between adipogenesis and myogenesis. *Cell* 113:147–158.

52. Higashi M, et al. (2003) Long-term inhibition of Rho-kinase suppresses angiotensin II-induced cardiovascular hypertrophy in rats in vivo: effect on endothelial NAD(P)H oxidase system. *Circ. Res.* 93:767–775.
53. Rikitake Y, et al. (2005) Decreased perivascular fibrosis but not cardiac hypertrophy in ROCK1+/- haploinsufficient mice. *Circulation* 112:2959–2965.
54. Hyvelin JM, et al. (2005) Inhibition of Rho-kinase attenuates hypoxia-induced angiogenesis in the pulmonary circulation. *Circ. Res* 97:185–191.
55. Saito I, et al. (1992) Effect of AT877 on cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Results of a prospective placebo-controlled double-blind trial. *J Neurosurg* 76:571-7.
56. Chun TH, et al. (2000) Inhibition of rho-associated kinase results in suppression of neointimal formation of balloon-injured arteries. *Circulation* 101:2030-3.
57. Laufs U, et al. (1998) Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation* 97:1129-35.
58. Laufs U, et al. (1999) 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors attenuate vascular smooth muscle proliferation by preventing rho GTPase-induced down-regulation of p27(Kip1). *J Biol Chem* 274:21926-31.
59. Chan J, et al. (1999) Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science* 286:1946-9.
60. Sundaresan M, et al. (1996) Regulation of reactive-oxygen-species generation in fibroblasts by Rac1. *Biochem. J* 318:379–382.
61. Takemoto M, et al. (2001) Statins as antioxidant therapy for preventing cardiac myocyte hypertrophy. *J. Clin. Invest* 108:1429–1437.
62. Wassmann S, et al. (2001) Inhibition of geranylgeranylation reduces angiotensin II-mediated free radical production in vascular smooth muscle cells: involvement of angiotensin AT1 receptor expression and Rac1 GTPase. *Mol. Pharmacol* 59:646–654.
63. Gregg D, et al. (2003) Rac regulates cardiovascular superoxide through diverse molecular interactions: more than a binary GTP switch. *Am. J. Physiol. Cell Physiol* 285:C723–C734.
64. Fukumoto Y, et al. (2009) Importance of Rac1 signaling pathway inhibition in the pleiotropic effects of HMG-CoA reductase inhibitors. *Circ J* 73:361 – 370.

65. Fushimi K, et al. (1999) Manumycin A, inhibitor of ras farnesyltransferase, inhibits proliferation and migration of rat vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 264(3):915-920.
66. Kaneki M. et al (2007) Farnesyltransferase inhibitor, manumycin A, prevents atherosclerosis development and reduces oxidative stress in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 27(6):1390-1395.
67. Avvedimento EV, et al. (1995) Inhibition of cellular ras prevents smooth muscle cell proliferation after vascular injury in vivo. *Nat Med.* 1(6):541-545.
68. Chien S, et al. (2000) Effects of active and negative mutants of ras on rat arterial neointima formation. *J Surg Res.* 94(2):124-132.
69. Issemann I, Green S (1990) Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature* 347: 645-50.
70. Caro JF, et al. (1997) Peroxisome proliferator-activated receptor gene expression in human tissues. Effects of obesity, weight loss, and regulation by insulin and glucocorticoids. *J Clin Invest* 99: 2416-22.
71. Cunard R, et al. (2004) Repression of IFN-gamma expression by peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *J Immunol* 172:7530-6.
72. Ishii N, et al. (2007) Statins activate peroxisome proliferator-activated receptor gamma through extracellular signal-regulated kinase 1/2 and p38 mitogen-activated protein kinase-dependent cyclooxygenase-2 expression in macrophages. *Circ Res* 100:1442-51.
73. Crisby M, et al. (2002) Modulation of inflammatory mediators and PPARgamma and NFkappaB expression by pravastatin in response to lipoproteins in human monocytes *in vitro*. *Pharmacol Res* 45:147-54.
74. Corti R, et al. (2004) The selective peroxisomal proliferator-activated receptor-gamma agonist has an additive effect on plaque regression in combination with simvastatin in experimental atherosclerosis: *in vivo* study by high-resolution magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol* 43:464-73.
75. Blanquart C, et al. (2004) The protein kinase C signaling pathway regulates a molecular switch between transactivation and transrepression activity of the peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Mol Endocrinol* 18: 1906-18.

76. Barbier O, et al. (2006) Acute antiinflammatory properties of statins involve peroxisome proliferator-activated receptor-alpha *via* inhibition of the protein kinase C signaling pathway. *Circ Res* 98: 361-9.
77. Dardik A, et al. (2002) Cells in focus: endothelial cell. *Int J Biochem Cell Biol*. 34(12):1508-1512.
78. Beckman JA, Creager MA (2006) The nonlipid effects of statins on endothelial function. *Trends Cardiovasc Med*. 16(5):156-162.
79. Tesfamariam B (2006) The effects of HMG-CoA reductase inhibitors on endothelial function. *Am J Cardiovasc Drugs* 6(2):115-120.
80. Hsia HH, et al (1989) Evidence of endothelial dysfunction in angiographically normal coronary arteries of patients with coronary artery disease. *Circulation* 79:287-91.
81. Carew TE, et al. (1989) Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 320:915-24.
82. Alderson LM, et al (1986) LDL enhances monocyte adhesion to endothelial cells *in vitro*. *Am J Pathol* 123:334-42.
83. Liao JK. (1994) Inhibition of Gi proteins by low density lipoprotein attenuates bradykinin-stimulated release of endothelial-derived nitric oxide. *J Biol Chem* 269:12987-92.
84. Buga GM, et al. (1987) Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:9265-9.
85. Dutra A, et al. (1992) S-nitrosoglutathione inhibits platelet activation *in vitro* and *in vivo*. *Br J Pharmacol* 107:745-9.
86. Garg UC, Hassid A (1989) Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 83:1774-7.
87. Gauthier TW, et al. (1995) Nitric oxide protects against leukocyte-endothelium interactions in the early stages of hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 15:1652-9.
88. Imaizumi T, et al. (1997) Single LDL apheresis improves endothelium-dependent vasodilatation in hypercholesterolemic humans. *Circulation* 95:76-82.

89. Anderson TJ, et al. (1995) The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Engl J Med* 332:488-93.
90. Green D, et al. (1997) Simvastatin, an HMGcoenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month. *Circulation* 95:1126-31.
91. Laufs U, Liao JK (1998) Post-transcriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase mRNA stability by Rho GTPase. *J Biol Chem* 273:24266-71.
92. Liao JK, et al. (2002) Rho-kinase mediates hypoxia-induced downregulation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 106:57-62.
93. Laufs U, et al. (1997) Inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl (HMG)-CoA reductase blocks hypoxia-mediated downregulation of endothelial nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 272:31725-9.
94. Bialik A, et al. (2000) The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. *Nat Med* 6:1004-10.
95. Nishimatsu H, et al. (2001) Endothelial nitric oxide synthase is essential for the HMGCoA reductase inhibitor cerivastatin to promote collateral growth in response to ischemia. *Faseb J* 15:2530-2.
96. Cooke JP, et al. (2002) Statins have biphasic effects on angiogenesis. *Circulation* 105:739-45.
97. Hofnagel O, et al. (2004) H. Differential modulation of caveolin-1 expression in cells of the vasculature by statins. *Circulation* 109:e7-8.
98. Balligand JL, et al. (2001) Hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase inhibition promotes endothelial nitric oxide synthase activation through a decrease in caveolin abundance. *Circulation* 103:113-8.
99. Hori M, et. (2005) Statin protects endothelial nitric oxide synthase activity in hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25:2335-42.
100. Aicher A, et al. (2001) HMG-CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via the PI 3-kinase/Akt pathway. *J Clin Invest* 108:391-7.
101. KawamotoA, et al. (2001) HMG-CoA reductase inhibitor mobilizes bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *J Clin Invest* 108:399-405.

102. Adler K, et al. (2001) Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation* 103:2885-90
103. Jilma B, et al (2008) Simvastatin and rosuvastatin mobilize Endothelial Progenitor Cells but do not prevent their acute decrease during systemic inflammation. *Thromb Res*
104. Braun-Dullaeus RC, et al. (1998) Cell cycle progression: new therapeutic target for vascular proliferative disease. *Circulation* 98:82-9.
105. Katznelson S, et al (1995) Effect of pravastatin on outcomes after cardiac transplantation. *N Engl J Med* 333: 621-7.
106. Chen Z, et al. (2002) Simvastatin reduces neointimal thickening in low-density lipoprotein receptor-deficient mice after experimental angioplasty without changing plasma lipids. *Circulation* 106:20 – 23
107. Aikawa M, et al. (2003) Direct anti-inflammatory mechanisms contribute to attenuation of experimental allograft arteriosclerosis by statins. *Circulation* 108:2113-20.
108. Chandrasekar B, et al, (2006) Interleukin-18-induced human coronary artery smooth muscle cell migration is dependent on NF-kappaB- and AP-1-mediated matrix metalloproteinase-9 expression and is inhibited by atorvastatin. *J Biol Chem* 281:15099-109.
109. Bruno S, et al. (1991) Cell cyclespecific effects of lovastatin. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:3628-32.
110. Hamilton AD, et al (1996) Protein geranylgeranylation, not farnesylation, is required for the G1 to S phase transition in mouse fibroblasts. *Oncogene* 13: 1991-9.
111. Lachat M, et al- (2000) HMG-CoA reductase inhibition improves endothelial cell function and inhibits smooth muscle cell proliferation in human saphenous veins. *J Am Coll Cardiol* 36:1691-7
112. Dutt P, et al. (2007) D. Inhibition of serotonin-induced mitogenesis, migration, and ERK MAPK nuclear translocation in vascular smooth muscle cells by atorvastatin. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 293:L463-71.
113. Chen SY, et al. (1993) HRas-dependent pathways can activate morphological and genetic markers of cardiac muscle cell hypertrophy. *J Biol Chem* 268: 2244-9.

114. Clerk A, et al. (2007) Signaling pathways mediating cardiac myocyte gene expression in physiological and stress responses. *J Cell Physiol* 212:311-22.
115. Duquesnes N, et al. (2008) Small GTP-binding proteins and their regulators in cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 44: 623-32.
116. Chen M, et al. (2002) Activation of NADPH oxidase during progression of cardiac hypertrophy to failure. *Hypertension* 40:477-84.
117. Aikawa R, et al. (1999) Rho family small G proteins play critical roles in mechanical stress-induced hypertrophic responses in cardiac myocytes. *Circ Res* 84:458-66.
118. Bohm M, et al. (2003) Oxygen free radical release in human failing myocardium is associated with increased activity of rac1-GTPase and represents a target for statin treatment. *Circulation* 108:1567-74.
119. Campbell B, et al. (1996) Effects of defibrotide on leukocyte-endothelial cell interaction in the rat mesenteric vascular bed: role of P-selectin. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 18:669-76.
120. Campbell B, et al. (1998) Synergism between platelets and neutrophils in provoking cardiac dysfunction after ischemia and reperfusion: role of selectins. *Circulation* 98:1322-8.
121. Bauersachs J, et al. (2004) Rapid regulation of platelet activation in vivo by nitric oxide. *Circulation* 109:1819-22.
122. Chen YF, et al (2004) Effect of atorvastatin on the expression of CD40 ligand and P-selectin on platelets in patients with hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 94:364-6.
123. Akao M, et al. (2003) Simvastatin attenuates oxidant-induced mitochondrial dysfunction in cardiac myocytes. *Circ Res* 93:697-9.
124. Bauersachs J, et al. (2001) Improvement of left ventricular remodeling and function by hydroxymethylglutaryl coenzyme a reductase inhibition with cerivastatin in rats with heart failure after myocardial infarction. *Circulation* 104:982-5.
125. Dechend R, et al (2001) Amelioration of angiotensin II-induced cardiac injury by a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitor. *Circulation* 104:576-81.

126. Drexler H. (1998) Endothelium as a therapeutic target in heart failure. *Circulation* 98:2652-5.
127. Node K, et al. (2003) Short-term statin therapy improves cardiac function and symptoms in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation* 108: 839-43.
128. Libby P (1995) Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 91: 2844 – 2850.
129. Daub K, et al (2008) Platelet lipoprotein interplay: trigger of foam cell formation and driver of atherosclerosis. *Cardiovasc Res.* 78(1):8-17.
130. Aviram M, et al. (1998) Interactions of platelets, macrophages, and lipoproteins in hypercholesterolemia: antiatherogenic effects of HMG-CoA reductase inhibitor therapy. *J Cardiovasc Pharmacol.* 31(1):39-45.
131. Danielson E, et al. (2009) A randomized trial of rosuvastatin in the prevention of venous thromboembolism. *N Engl J Med* 360: 1851 – 1861
132. Abrams C, Shattil SJ (1991) Immunological detection of activated platelets in clinical disorders. *Thromb Haemost* 65(5):467-473.
133. Huhle G, et al. (1999) Reduction of platelet activity markers in type II hypercholesterolemic patients by a HMG-CoA-reductase inhibitor. *Thromb Res.* 95(5):229-234.
134. Hussein O, et al. (1997) Reduced platelet aggregation after fluvastatin therapy is associated with altered platelet lipid composition and drug binding to platelets. *Br J Clin Pharmacol* 44(1):77-83.
135. Akkerman JWN, et al. (2003) Lowdensity lipoprotein and its effect on human blood platelets. *Cell Mol Life Sci.* 60(5):961-971
136. Haramaki N, et al. (2007) Fluvastatin alters platelet aggregability in patients with hypercholesterolemia: possible improvement of intraplatelet redox via HMG-CoA reductase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27(6):1471-1478.
137. Aikawa M, et al (2001) An HMG-CoA reductase inhibitor, cerivastatin, suppresses growth of macrophages expressing matrix metalloproteinases and tissue factor in vivo and in vitro. *Circulation* 103: 276 – 283.
138. Ali FY, et al. (2009) Antiplatelet actions of statins and fibrates are mediated by PPARs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 29:706 – 711.

139. Ross R (1993) The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 362: 801-9.
140. Curb JD, et al. (1999) Characterization of risk factors for vascular dementia: the Honolulu-Asia Aging Study. *Neurology* 53: 337-43.
141. Libby P (2002) Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 420:868-74.
142. Basson CT (2000) The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 35:1-10.
143. Hansen PR, et al (2001) Diverse effects of inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase on the expression of VCAM-1 and E-selectin in endothelial cells. *Biochem J* 360:363-70.
144. Chung HK, et al. (2002) Statin inhibits interferon-gamma-induced expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Exp Mol Med* 34:451-61.
145. Bucek RA, et al. (2003) Simvastatin reduces the expression of adhesion molecules in circulating monocytes from hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23: 397-403.
146. Campbell B, et al. (1990) Simvastatin preserves the ischemic-reperfused myocardium in normocholesterolemic rat hearts. *Circulation* 100: 178-84
147. Hoffmeyer M, et al. (2001) Simvastatin exerts both anti-inflammatory and cardioprotective effects in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 103:2598-603.
148. Ferrans VJ, et al. (1996) Regulation of reactive-oxygen-species generation in fibroblasts by Rac1. *Biochem J* 318(Pt 2):379-82.
149. Kwak B, et al. (2000) Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med* 6:1399-402.
150. Hara A, et al. (1997) Beta 2-integrin-mediated signal up-regulates counterreceptor ICAM-1 expression on human monocytic cell line THP-1 through tyrosine phosphorylation. *Cell Immunol* 178:9-16.
151. Badimon JJ, et al. (1994) Characterization of the relative thrombogenicity of atherosclerotic plaque components: implications for consequences of plaque rupture. *J Am Coll Cardiol*, 23: 1562-9.
152. Ambrose JA, et al. (1990) Atherosclerotic plaque rupture and thrombosis. Evolving concepts. *Circulation* 82:II47-59.

153. Fuster V (1995) Elucidation of the role of plaque instability and rupture in acute coronary events. *Am J Cardiol* 76:24C-33C.
154. Koh KK (2000) Effects of statins on vascular wall: vasomotor function, inflammation, and plaque stability. *Cardiovasc Res* 47: 648-57.
155. Enomoto M, et al. (2001) Statins alter smooth muscle cell accumulation and collagen content in established atheroma of watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Circulation* 103:993-9.
156. Badimon JJ, et al. (1995) Human monocyte-derived macrophages induce collagen breakdown in fibrous caps of atherosclerotic plaques: potential role of matrix-degrading metalloproteinases and implications for plaque rupture. *Circulation* 92(6):1565-1569.
157. Aikawa M, et al. (1996) Macrophages and atherosclerotic plaque stability. *Curr Opin Lipidol* 7(5):330-335.
158. Lark MW, et al. (1994) Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*. 94(6):2493-2503.
159. Bourcier T, Libby P (2000) HMG CoA reductase inhibitors reduce plasminogen activator inhibitor-1 expression by human vascular smooth muscle and endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20: 556-62.
160. Crisby M, et al (2001) J. Pravastatin treatment increases collagen content and decreases lipid content, inflammation, metalloproteinases, and cell death in human carotid plaques: implications for plaque stabilization. *Circulation* 103:926-33.
161. Schwartz GG, et al. (2001) Effects of atorvastatin on early recurrent ischemic events in acute coronary syndromes: the MIRACL study: a randomized controlled trial. *Jama* 285: 1711-8.
162. Cannon CP, et al (2004) Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction. Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. the PROVE-IT trial. *N Engl J Med* 350:1495-504.
163. Carvalho AC, et al. (1974) Platelet function in hyperlipoproteinemia. *N Engl J Med* 290(8):434-438.
164. Anaya-Galindo R, et al. (1975) Platelet hypersensitivity induced by cholesterol incorporation. *J Clin Invest* 55(3):636-643.

165. Aviram M, et al (1994) Lovastatin decreases plasma and platelet cholesterol levels and normalizes elevated platelet fluidity and aggregation in hypercholesterolemic patients. *Metabolism* 43(1):11-17.
166. Ridker PM (2003) Rosuvastatin in the primary prevention of cardiovascular disease among patients with low levels of low-density lipoprotein cholesterol and elevated high-sensitivity C-reactive protein: Rationale and design of the JUPITER trial. *Circulation* 108:2292 – 2297.
167. Ridker PM, et al. (2008) Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med* 359: 2195 – 2207.
168. Ridker PM et al (2009) Reduction in C-reactive protein and LDL cholesterol and cardiovascular event rates after initiation of rosuvastatin: A prospective study of the JUPITER trial. *Lancet* 373:1175 – 1182.
169. Takayama T, et al. (2009) Effect of rosuvastatin on coronary atheroma in stable coronary artery disease: Multicenter coronary atherosclerosis study measuring effects of rosuvastatin using intravascular ultrasound in Japanese subjects (COSMOS). *Circ J* 73:2110 – 2117.
170. Kodal A, et al (2002) Inhibition of intestinal cholesterol absorption by ezetimibe in humans. *Circulation* 106: 1943 – 1948.
171. Bruckert E, et al (2003) Perspectives in cholesterol-lowering therapy: The role of ezetimibe, a new selective inhibitor of intestinal cholesterol absorption. *Circulation* 107:3124 – 3128.
172. Groot E, et al. (2005) Comparison of ezetimibe plus simvastatin versus simvastatin monotherapy on atherosclerosis progression in familial hypercholesterolemia: Design and rationale of the Ezetimibe and Simvastatin in Hypercholesterolemia Enhances Atherosclerosis Regression (ENHANCE) trial. *American Heart Journal* 149(2):234-239
173. Akdim F, et al. (2008) Simvastatin with or without ezetimibe in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 358:1431 –1443.
174. Chen JH, et al (2009) Evidence for statin pleiotropy in humans: Differential effects of statins and ezetimibe on rho-associated coiled-coil containing protein kinase activity, endothelial function, and inflammation. *Circulation* 119:131 – 138.

175. Boger R, et al. Flow-mediated dilation in patients with coronary artery disease is enhanced by high dose atorvastatin compared to combined low dose atorvastatin and ezetimibe: Results of the CEZAR study. *Atherosclerosis* 205:227 – 232.
176. Babuty D, et al (2008) Antiarrhythmic effect of statin therapy and atrial fibrillation a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Am Coll Cardiol* 51: 828-35.
177. Baranchuk A, et al (2005) Prevention of atrial fibrillation with angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 45: 1832-9.
178. Rosenson RS (2004) Statins in atherosclerosis: lipid-lowering agents with antioxidant capabilities. *Atherosclerosis* 173:1-12.
179. Conde CA, et al. (2005) Treatment and prevention of atrial fibrillation with non-antiarrhythmic pharmacologic therapy. *Heart Rhythm* 2: 1000-7.
180. Li GP, Liu T (2006) Statins may prevent postoperative atrial fibrillation through autonomic modulation. *Am J Cardiol* 97: 1266.
181. Fried LF, et al. (2006) Statins for improving renal outcomes: a meta-analysis. *J Am Soc Nephrol* 17:2006-16.
182. Johnson DW, et al. (2008) Effects of statins in patients with chronic kidney disease: meta-analysis and meta-regression of randomized controlled trials. *Bmj* 336:645-51.
183. Ehrenstein M R, Jury E C (2005), Statins: immunomodulators for autoimmune rheumatic disease? *Lupus* 14(3):192-196
184. Graca Morais M, et al (2003) Therapeutic potential of lovastatin in multiple sclerosis. *J Neurol* 250: 754-5.
185. Corboy J, et al. (2004) Oral simvastatin treatment in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Lancet* 363:1607-8.
186. Basson CT (2000) The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 35: 1-10.

Anexos

Figuras

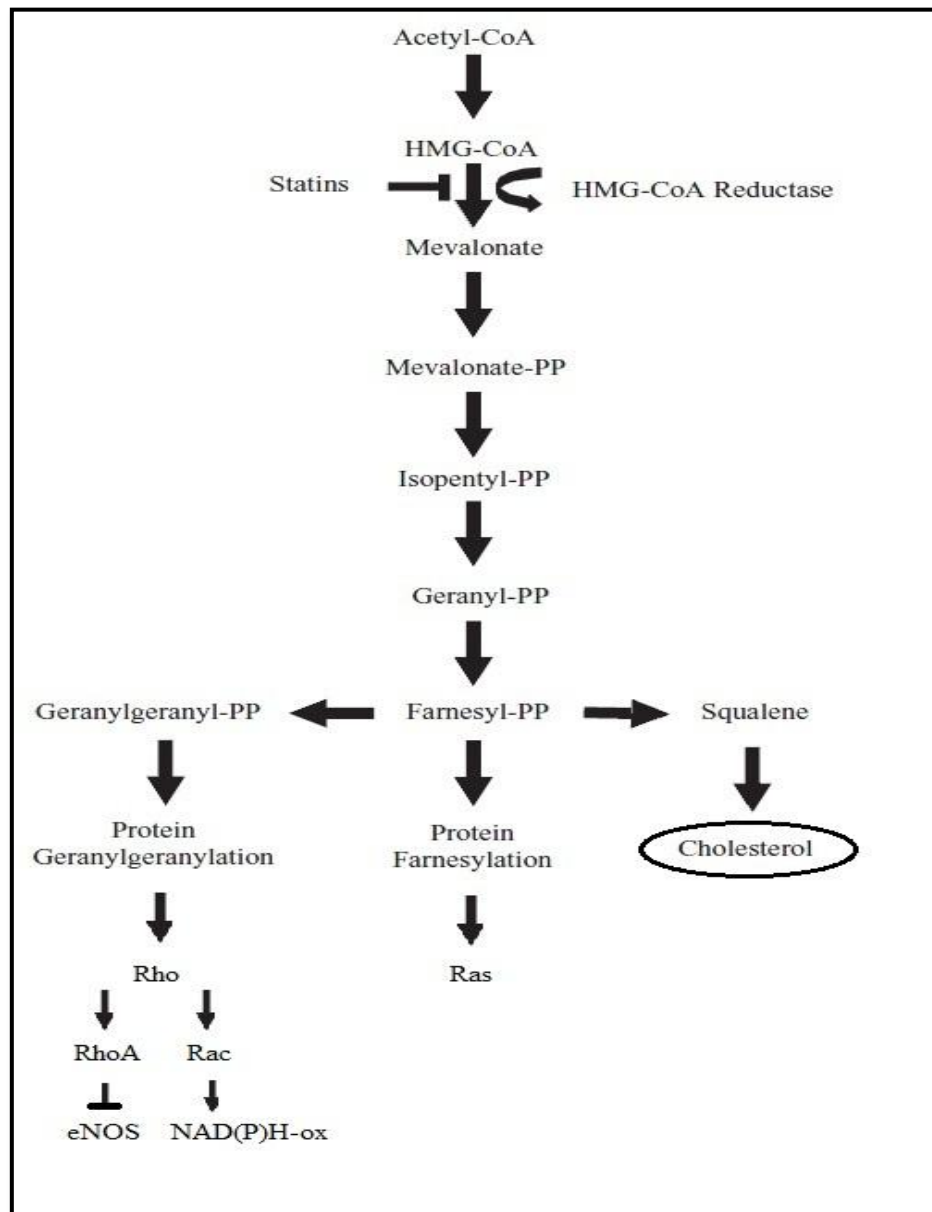


Figura 1 – Via do ácido mevalônico. Diagrama da biossíntese de colesterol com consequente isoprenilação das proteínas Rho e Ras, que inibe a formação da eNOS e activa a NAD(P)H oxidase. As estatinas através da inibição sobre a HMG-CoA redutase impedem todo este processo. Abreviaturas: eNOS- sintetase de óxido nítrico das células endoteliais; HMG-CO- 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A; NAD(P)H- Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato. (adaptado de Gahtan V, et al. (2010) Statin Therapy–Part I: The Pleiotropic Effects of Statins in Cardiovascular Disease.)²⁹

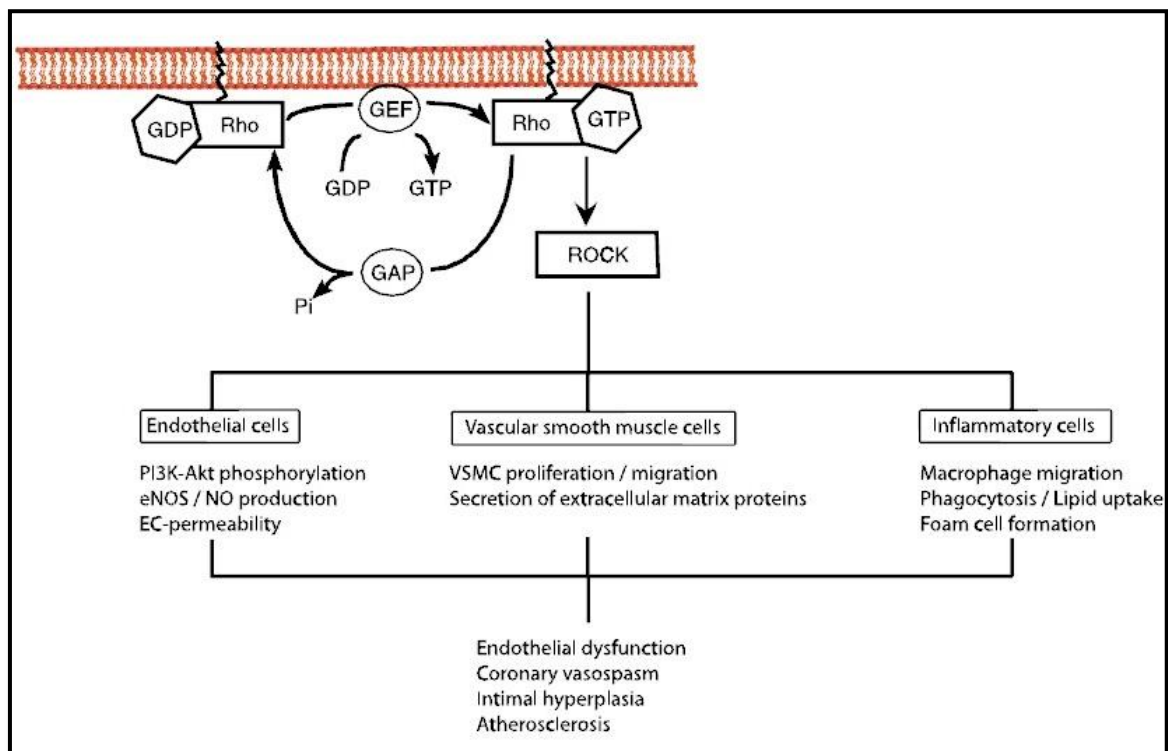


Figura 2 – Regulação do ciclo Rho GTPase. A proteína Rho varia entre o estado inativo quando ligada à GDP e activo quando ligada à GTP. A inibição da síntese de ácido mevalónico por parte das estatinas impede a isoprenilação da proteína Rho e a subsequente activação da ROCK. A inibição da via Rho/ROCK medeia alguns dos efeitos pleiotrópicos das estatinas sobre a parede vascular. Abreviaturas: EC- células endoteliais; eNOS- sintetase de óxido nítrico das células endoteliais; GDP- guanosina difosfato; GEF- fatores de troca do nucleotídeo guanina; GTP- guanosina trifosfato; PI3K- Fosfatidilinositol-3-cinase; ROCK- Rho cinase; VSMC- células do músculo liso vascular (in Liao JK, Zhou Q (2010) Pleiotropic Effects of Statins – Basic Research and Clinical Perspectives.)⁴⁴

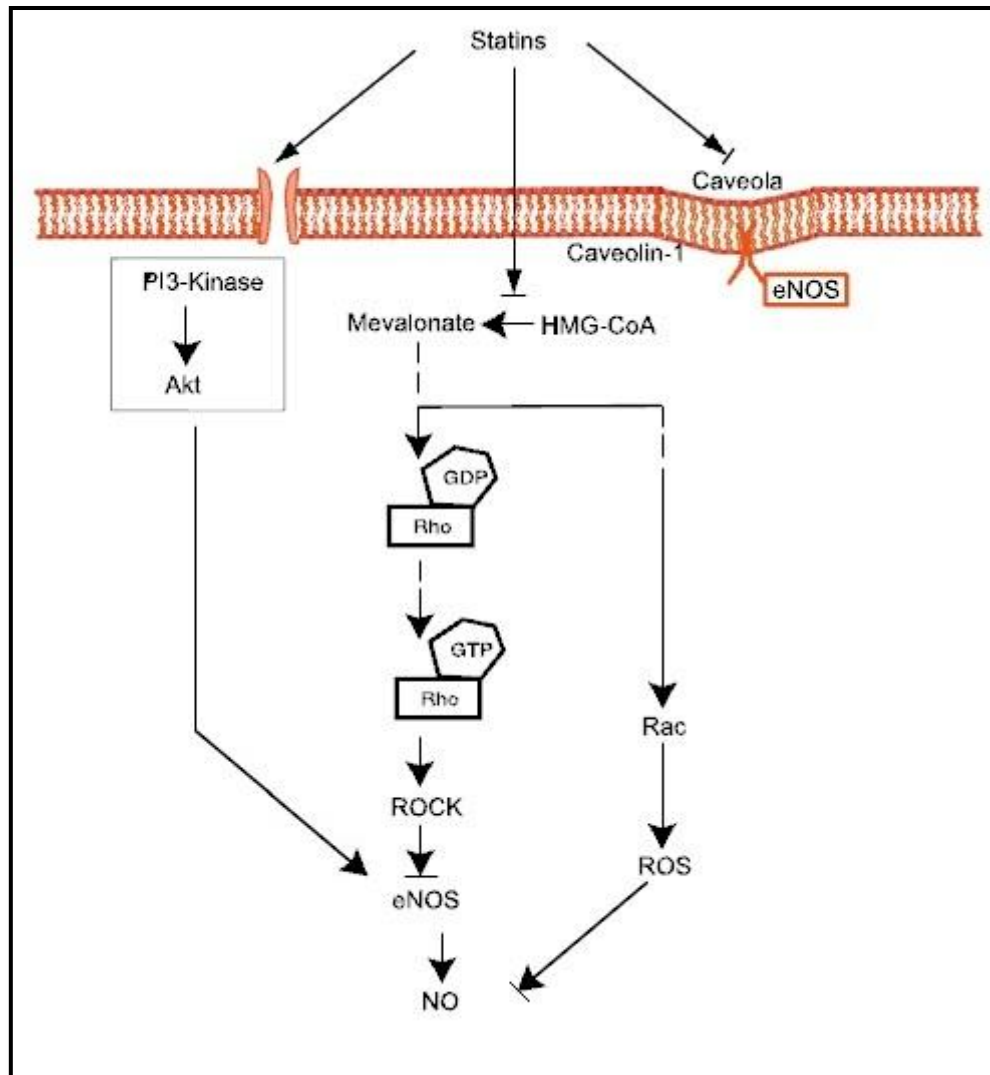


Figura 3 – Aumento da eNOS pelas estatinas. As estatinas modulam a expressão da eNOS por três mecanismos principais: (1) aumento da estabilidade do mRNA da eNOS através da inibição da isoprenilação da Rho; (2) aumento da fosforilação da eNOS através da via da PI3-cinase; (3) aumento da actividade da eNOS através da redução da abundância da caveolina-1. Abreviaturas: eNOS- sintetase de óxido nítrico das células endoteliais GDP- guanosina difosfato GTP- guanosina trifosfato NO- óxido nítrico PI3K- fosfatidilinositol-3-cinase ROCK- Rho cinase ROS- espécies reactivas do oxigénio (in Liao JK, Zhou Q (2010) Pleiotropic Effects of Statins – Basic Research and Clinical Perspectives.)⁴⁴

Acrónimos utilizados no trabalho

4S – Scandinavian Simvastatin Survival Study

AFCAPS/TexCAPS Air Force/Texas – Coronary Atherosclerosis Prevention Study HPS
Heart Protection Study

AP1 – Proteína ativadora 1

ASCOT-LLA – Scandinavian Cardiac Outcome Trial Lipid-lowering Arm

AVC – Acidente vascular cerebral

BNP – Péptido natriurético cerebral

CIITA – Tansativador de classe II

CARE – Cholesterol and Recurrent Events

CHF – Insuficiência cardíaca congestiva

DCV – Doença cardiovascular

eNOS – Sintetase de óxido nítrico das células endoteliais

EPC – Células endoteliais progenitoras

FPP – Farnesil-pirofosfato

GDP – Guanosina difosfato

GGPP – Geranylgeranyl-pirofosfato

GTP – Guanosina trifosfato

HMG-CoA – 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A

ICAM-1 – Molécula de adesão intercelular 1

IECA – Inibidores da enzima conversora de angiotensina

IL-6 – Interleucina-6

INF- γ – Interferão- γ

JUPITER – Justification for the Use of Statin in Primary Prevention

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

LFA-1 – Antígeno associado à função linfocitária 1

LIPID – Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease

LPS – Lipopolissacarídeos

MCP-1 – Proteína quimioatrativa do monócito tipo 1

MHC-II – Complexo principal de histocompatibilidade tipo II

MIRACL – Myocardial Ischemia Reduction with Aggressive Cholesterol Lowering

ML-236B – Mevastatina

MLC – Cadeias leves de miosina

MMP – Metaloproteinases da matriz

NADPH – Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

NFκB – Factor de transcrição nuclear kappa B

NO – Óxido nítrico

NYHA – New York Heart Association

PDGF – Factor de crescimento derivado das plaquetas

PI3K – Fosfatidilinositol-3-cinase

PKC – Proteína-cinase C

PPARs – Proliferadores peroxissomais

PROVE-IT – Prevastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy and Thrombolysis in Myocardial Infarction

ROCK – Rho cinase

ROS – Espécies reactivas do oxigénio

TF – Factor tecidual

TNFα – Factor de necrose tumoral α

VCAM-1 – Molécula de adesão vascular 1

VSMC – Células do músculo liso vascular

VLDL – Lipoproteínas de muito baixa densidade

WOSCOPS – West of Scotland Coronary Prevention Study