

Efeitos da Atorvastatina, Fluvastatina, Pravastatina e Simvastatina Sobre a Função Endotelial, a Peroxidação Lipídica e a Aterosclerose Aórtica em Coelhos Hipercolesterolêmicos

Effects of Atorvastatin, Fluvastatin, Pravastatin, and Simvastatin on Endothelial Function, Lipid Peroxidation, and Aortic Atherosclerosis in Hypercholesterolemic Rabbits

Paulo Afonso Ribeiro Jorge, Eros Antonio de Almeida, Michiko R. Ozaki, Mariana Jorge, Adriano Carneiro
Campinas, SP

Objetivo

Comparar os efeitos da atorvastatina, fluvastatina, pravastatina e simvastatina sobre a função endotelial, a aterosclerose aórtica e o teor de malondialdeído (MDA) nas LDL nativas, oxidadas e na parede arterial de coelhos hipercolesterolêmicos, depois que as doses destas estatinas foram ajustadas para reduzir o colesterol total plasmático a valores similares.

Métodos

Coelhos machos, foram separados em grupos de 10 animais ($n=10$), chamados hipercolesterolêmico (controle), atorvastatina, fluvastatina, pravastatina e normal. A exceção do grupo normal, os animais foram alimentados com ração padrão acrescida de colesterol a 0,5% e óleo de coco a 2% durante 45 dias. As drogas foram administradas a partir do 15º dia do início do experimento e no 30º dia, as doses foram ajustadas, através do controle do colesterol plasmático, para obter valores semelhantes em cada grupo. Ao final do experimento foi dosado o colesterol plasmático e as lipoproteínas e retirado um segmento de aorta torácica para estudo da função endotelial, da peroxidação lipídica e exame histológico para medida da aterosclerose aórtica.

Resultados

As estatinas reduziram significativamente o colesterol total plasmático, as LDL-colesterol e a aterosclerose aórtica. O teor de MDA também foi significativamente reduzido nas LDL nativas e oxidadas, assim como na parede arterial. O relaxamento-dependente do endotélio foi significativamente maior no grupo tratado em comparação ao hipercolesterolêmico.

Conclusão

As estatinas, em doses ajustadas, tiveram efeito significativo e similar em reduzir a peroxidação lipídica nas LDL e na parede arterial, na regressão da aterosclerose aórtica e na reversão da disfunção endotelial.

Palavras-chave

inibidores da HMGCoA-redutase, aterosclerose aórtica, peroxidação lipídica

Objective

To compare the effects of atorvastatin, fluvastatin, pravastatin, and simvastatin on endothelial function, aortic atherosclerosis, and the content of malondialdehyde (MDA) in native and oxidized LDL and in the arterial wall of hypercholesterolemic rabbits after adjusting the dosages of those statins to reduce total serum cholesterol levels to similar values.

Methods

Male rabbits were divided into the following 6 groups of 10 animals ($n=10$): 1) GH (control) - hypercholesterolemic animals; 2) GA - atorvastatin; 3) GF - fluvastatin; 4) GP - pravastatin; 5) GS - simvastatin; and 6) GN - normal. The animals were fed a standard food preparation enriched with 0.5% cholesterol and 2% coconut oil for 45 days. Fifteen days after beginning the experiment, atorvastatin, fluvastatin, pravastatin and simvastatin were administered for 15 days through gavage, and the dosages were adjusted to obtain similar cholesterol values in each group. At the end of the experiment, a blood sample was withdrawn for determining total cholesterol and separating the lipoproteins, and a segment of the thoracic aorta was removed to be used for studying endothelial function and lipid peroxidation, and for measuring aortic atherosclerosis in histological sections.

Results

The statins significantly reduced total serum cholesterol levels, LDL-cholesterol levels, and aortic atherosclerosis. The MDA content was also significantly reduced in native and oxidized LDL, as well as in the arterial wall. Endothelium-dependent relaxation was significantly greater in the treated group compared with that in the hypercholesterolemic group.

Conclusion

The statins, at dosages adjusted, had a significant and similar effect in reducing lipid peroxidation in native and oxidized LDL-C and in arterial walls, in decreasing aortic atherosclerosis, and in reverting endothelial dysfunction.

Key words

HMG-CoA reductase inhibitors, aortic atherosclerosis, lipid peroxidation

Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp - Campinas
Endereço para correspondência: Paulo Afonso Ribeiro Jorge
Rua Guilherme da Silva, 397 - Cep 13025-070 - Campinas, SP
E-mail: parjorge@terra.com.br
Enviado em 04/04/2004 - Aceito em 29/10/2004



As drogas inibidoras da HMGCoA-redutase reduzem, efetivamente, a mortalidade e os eventos coronarianos¹⁻⁶, representando poderoso instrumento na prevenção e no controle da aterosclerose. Uma das principais ações destas drogas é reduzir as LDL-colesterol plasmáticas, interferindo na biossíntese do colesterol e aumentando o número de receptores hepáticos para a ApoB100⁷.

Mais recentemente, efeitos adicionais destas drogas têm sido demonstrados e considerados de importância na estabilização da placa de aterosclerose. Esses efeitos, chamados pleiotrópicos, referem-se à proteção endotelial, à redução da peroxidação lipídica e ao controle da reação inflamatória e da hemostasia⁸⁻¹¹.

Alguns efeitos adversos das estatinas têm sido relatados e incluem cefaléia, mialgia, faringite e interação com outros medicamentos metabolizados no citocromo P450¹²⁻¹⁴.

Embora as estatinas tenham um mecanismo semelhante de ação, diferem na sua potência em reduzir o colesterol plasmático, sua solubilidade e metabolismo^{15,16}.

Em trabalhos anteriores, foi estudado o efeito da simvastatina e da pravastatina sobre a função endotelial, o colesterol tecidual e o número de células espumosas em anéis de aorta de coelhos hipercolesterolêmicos^{17,18}. Nesses estudos, verificamos que a pravastatina foi mais efetiva em reverter a disfunção endotelial ocasionada pela hipercolesterolemia, assim como reduziu mais intensamente o número de células espumosas em cortes histológicos obtidos da aorta torácica. Esses achados foram interpretados com cautela por tratar-se de estudo em animal de experimentação, mas de qualquer forma a diferença de efeitos observados entre essas estatinas insere-se dentro da controversa discussão sobre o diferencial farmacológico das drogas inibidoras da HMGCoA-redutase.

No presente estudo, propusemo-nos a comparar o efeito de quatro estatinas (atorvastatina, fluvastatina, pravastatina e simvastatina) sobre a função endotelial, a peroxidação lipídica e a aterosclerose da aorta de coelhos hipercolesterolêmicos. As doses das estatinas foram ajustadas para reduzir o colesterol total plasmático a valores similares.

Métodos

Os experimentos foram conduzidos de acordo com as recomendações do *US National Institute of Health for the care and use of laboratory animals (NIH publication N 85-23 revision)*.

Foram utilizados 60 coelhos da raça Nova Zelândia, com idade de 12 semanas, machos, com peso variando de 1,6 a 2,4 Kg, e distribuídos em grupos de 10 (n=10), denominados grupos normal (GN), hipercolesterolêmico (GH), atorvastatina (GA), fluvastatina (GF), pravastatina (GP) e simvastatina (GS). Os animais foram separados em gaiolas individuais e alimentados com ração padrão, da marca Purina, adicionada de colesterol a 0,5% e óleo de coco a 2%, por 45 dias. Foram servidos 100gr de ração/dia e água à vontade. Após 15 dias, foi obtida uma amostra de sangue, por punção cardíaca, para determinação do colesterol plasmático. Em seguida, atorvastatina (10 mg/dia), fluvastatina (20 mg/dia), pravastatina (20mg/dia) e simvastatina (15 mg/dia) foram administradas aos respectivos grupos. As doses basearam-se em estudos anteriores^{17,18} e as drogas administradas uma vez ao dia através de gavagem. Após 15 dias, foi obtida outra amostra de sangue para determinação do colesterol plasmático e as doses das estatinas ajustadas para se obter valores semelhantes do colesterol plasmático em cada grupo. As doses finais foram

10 mg/dia, 15 mg/dia, 15 mg/dia e 10 mg/dia para atorvastatina, fluvastatina, pravastatina e simvastatina, respectivamente.

Após o final do experimento, outra amostra de sangue foi obtida para determinação do colesterol plasmático e separação das lipoproteínas. Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e realizada toracotomia mediana e remoção da aorta para obtenção dos anéis destinados ao estudo da função endotelial, dosagem do MDA e exame histológico para medida da aterosclerose aórtica. Fragmentos de fígado e músculo foram também obtidos para exame histológico.

A aorta torácica, limpa de tecido conectivo, foi cortada em anéis de aproximadamente 5mm, com especial atenção para não lesar o endotélio. Em um contingente de anéis, o endotélio foi lesado, mecanicamente, através de um pequeno fórceps. Os anéis da aorta foram suspensos em 10ml de solução de Krebs-Henseleit a pH 7.4 (composição em mmol/L: NaCl, 113.; CaCl₂, 2.19; NaHCO₃, 25.0; MgSO₄, 0.44; KH₂PO₄, 1.18; EDTA, 0.03; glicose, 11.0). A solução foi mantida a 37°C e, continuamente aerada, com uma mistura de gás contendo 95% de O₂ e 5% de CO₂. Os anéis foram montados em dois suportes metálicos ligados a um transdutor de força (*Narco Byosystem*) e distendidos a uma tensão basal de 1g. Os anéis aórticos foram deixados estabilizar por 60min, com troca da solução Krebs Henseleit a cada 20min. Para prevenir a síntese de prostaglandinas, os experimentos foram realizados na presença de 10 µM de indometacina.

Os anéis de aorta torácica, com e sem endotélio, foram contraídos com noradrenalina (NA, 10⁻⁷ M). Quando a contração se manteve estável, acetilcolina (ACH) foi adicionada à solução, de forma cumulativa (10⁻⁸-10^{-5.5}M) para obter as curvas de concentração-efeito. Após, a solução foi substituída com Krebs-Henseleit e a tensão estabilizada em valores basais, com freqüente renovação da solução. Após 30min, os anéis de aorta foram contraídos com NA (10⁻⁷ M) e outras curvas de concentração-efeito obtidas com nitroprussiato de sódio (SNP, 10⁻⁸ - 10^{-5.5} M).

Anéis de aorta, com 5mm de espessura, foram obtidos de forma padronizada de áreas definidas da parte superior da aorta torácica. Também foram retirados fragmentos de fígado e músculo da coxa. Os tecidos foram fixados em formalina a 10% por 24h, processados e embebidos em parafina. Cortes seriados foram montados em lâminas e corados com hematoxilina-eosina.

O colesterol total plasmático foi medido através de kits enzimáticos comerciais em um espectrofotômetro *Genesys 10* marca *Spectronics* e os resultados expressos em mg/dl. TGO e TGP também foram medidos através de kit enzimático comercial e os resultados expressos em U/l.

A peroxidação lipídica foi avaliada pela medida do MDA, um dos produtos finais da peroxidação. Amostras de aorta foram homogeneizadas em ácido-tricloroacético (TCA) gelado (1 mg de tecido por ml de TCA a 10%). Após centrifugação, uma porção do sobrenadante foi adicionada a igual volume de ácido tiobarbitúrico (0,6% v/v) e a mistura aquecida a 100°C por 20min. A concentração de MDA foi calculada através de espectrofotômetro, usando uma absorção de 532 nm e um coeficiente de extinção molar de 1,49x10⁻⁵, sendo os resultados expressos em nmol/mg de tecido seco x10⁻⁷¹⁹. As lipoproteínas foram separadas por ultracentrifugação sequencial do plasma de acordo com o método de Havel e cols.²⁰. Sumariamente, o plasma foi centrifugado a 40.000 rpm por 18h a 4°C em um Ti50 rotor (Beckman) e a camada de VLDL (d<1.006 g/ml) removida. O sobrenadante foi ajustado a uma

densidade de 1063 g/ml usando brometo de potássio e centrifugado a 40 000 rpm por 20h. A LDL isolada foi dializada em 0,01 M de tampão fosfato (PBS), pH 7,4 a 8°C por 24h, com freqüente lavagem do tampão. A concentração de proteína das LDL foi determinada pelo método de Lowry e cols.²¹, usando albumina bovina como padrão. A oxidação das LDL foi feita através da incubação com sulfato de cobre 5 mM (100 µg de proteína/ml, 1 M PBS) por 24 h a 37°C²². A concentração de lípidos peróxidos das LDL nativas e oxidadas foi medida pela reação do ácido tiobarbitúrico (TBARS), como descrito por Buege e Aust²³. Os valores das TBARS foram expressos como equivalentes do MDA (nmol/proteína LDL) usando solução padrão de 1,1, 3,3 tetrametoxipropano.

Imagens dos cortes histológicos dos anéis da aorta foram obtidas através de microscópio Leica DMLD e importadas para um computador. Através de um programa Scion²⁴ foram selecionadas manualmente as áreas da parede arterial e dos lipossomos extracelulares. O número de *pixels* foi determinado e usado como medida. Os resultados foram expressos como % dos lipossomos extracelulares em relação a parede arterial²⁵.

Cloreto de acetilcolina, bitartrato de noradrenalina, nitroprussiato de sódio, ácido tricloroacético, ácido tiobarbitúrico e indometacina foram obtidos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Os reagentes da solução de Krebs-Henseleit foram obtidos da Merck Chemicals.

As análises descritivas foram feitas através das medidas de posição e dispersão para as variáveis contínuas. Para comparar os grupos de tratamentos através das variáveis coletadas foi utilizada análise de variância simples (ANOVA *one-way*), com transformação por *ranks* (postos) das variáveis. Para localização das diferenças foi aplicado o teste de comparação múltipla de Tukey.

Para comparar as curvas dose resposta foi utilizada a ANOVA com medidas repetidas. Para localização das diferenças foram utilizados os testes de comparação múltipla de Tukey e o teste de perfil por contrastes. O nível de significância adotado foi de 5%^{26,27}.

Resultados

No início do estudo, o peso médio dos coelhos, nos diferentes grupos, foi 1,80±0,2 kg para o GN, 2,0±0,18 kg para GH, 1,75±0,12 kg para GA, 1,85±0,14 kg para GF, 2,09±0,23 kg para GP e 1,79±0,10 kg para o GS. Todos os animais ganharam peso durante o estudo, mas não houve diferença significativa entre os grupos.

A figura 1 mostra ocorrência de acentuada elevação do colesterol total plasmático no grupo hipercolesterolêmico(GH) comparado com o normal(GN). O tratamento com estatinas reduziu significativamente os níveis do colesterol plasmático. Não houve diferença entre os grupos, o mesmo observado com os níveis das LDL-colesterol (fig. 2).

O teor de malonaldeído (MDA) (nmol/mg x 10⁻⁷M) nas partículas de LDL oxidadas e parede da aorta encontram-se nas figuras 3 e 4. O teor de MDA da parede aórtica e das LDL oxidadas foi significativamente reduzido no grupo tratado, quando comparado com o grupo hipercolesterolemia (p<0,05). Não houve diferença significativa entre os grupos tratados. Resposta semelhante foi obtida para o teor de MDA nas LDL nativas.

A figura 5 expressa a % de relaxamento dos anéis aórticos dos coelhos hipercolesterolêmicos, em resposta a acetilcolina foi significativamente menor que nos animais do grupo normal. Todas as

estatinas reverteram o relaxamento até próximo do normal em graus variáveis, sendo a mais efetiva a pravastatina. O relaxamento máximo com nitroprussiato foi de 100% para todos os grupos. Não houve relaxamento com ACH nos segmentos de aorta em que o endotélio foi removido mecanicamente. A intensidade de contração com NE foi semelhante entre os grupos.

O exame histológico mostrou a presença de lipossomos extracelulares na região da íntima da aorta dos coelhos hipercolesterolêmicos, sem a presença de células inflamatórias. A porcentagem de lipossomos extracelulares comparados com a parede do

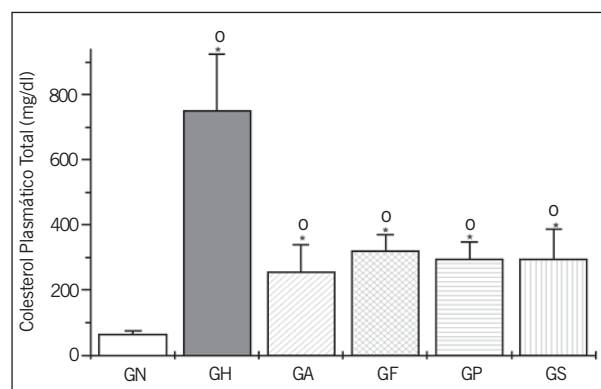


Fig. 1 - Colesterol plasmático total. Valores expressos como média e DP. GN, GH, GA, GF, GP, GS = normal, hipercolesterolêmico, atorvastatina, fluvastatina, pravastatina e simvastatina, respectivamente. * p<0,05 para GH; o p<0,05 para GN.

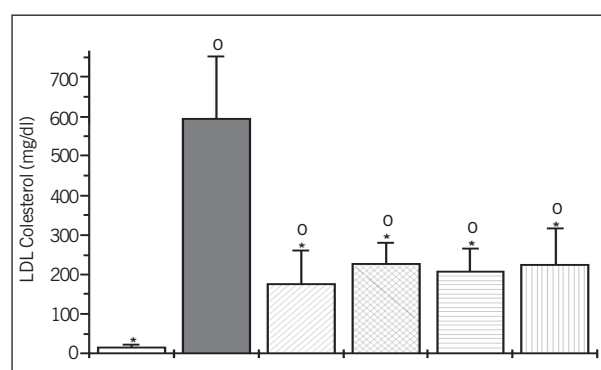


Fig. 2 - LDL-colesterol plasmático (mg/dl). Valores expressos como média e DP. GN, GH, GA, GF, GP, GS = grupos normal, hipercolesterolêmico, atorvastatina, fluvastatina, pravastatina e simvastatina. * p<0,05 para GH; o p<0,05 para GN.

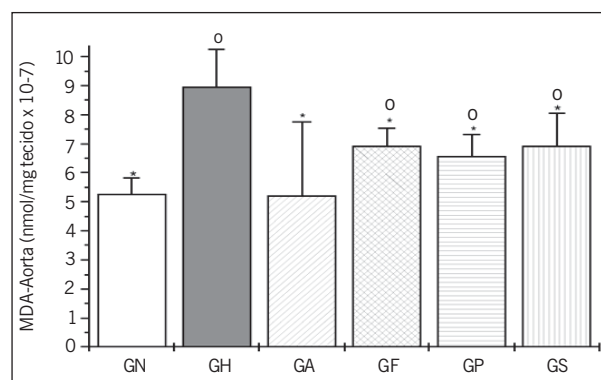


Fig. 3 - Concentração de malonaldeído (MDA) na parede da aorta (x10⁻⁷ nmol/mg/tecido). Valores expressos como média e DP. GN, GH, GA, GF, GP, GS = grupos normal, hipercolesterolêmico, atorvastatina, fluvastatina, pravastatina e simvastatina, respectivamente. * p<0,05 para GH; o p<0,05 para GN.

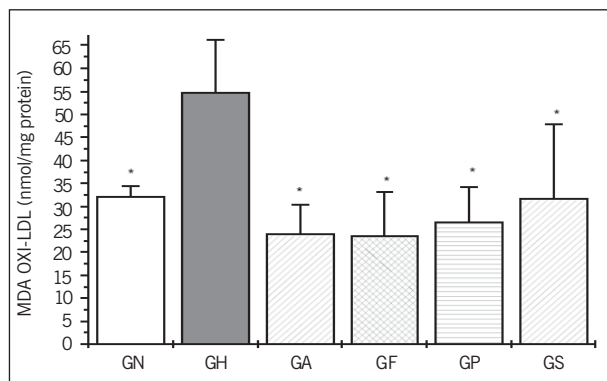


Fig. 4 - Malondialdeído na partículas de LDL oxidado (nmol/mg proteína). Valores expressos como média e DP. GN, GH, GA, GF, GP, GS = grupos normal, hipercolesterolêmico, atorvastatina, fluvastatina, pravastatina e simvastatina, respectivamente. * $p < 0,05$ para HG.

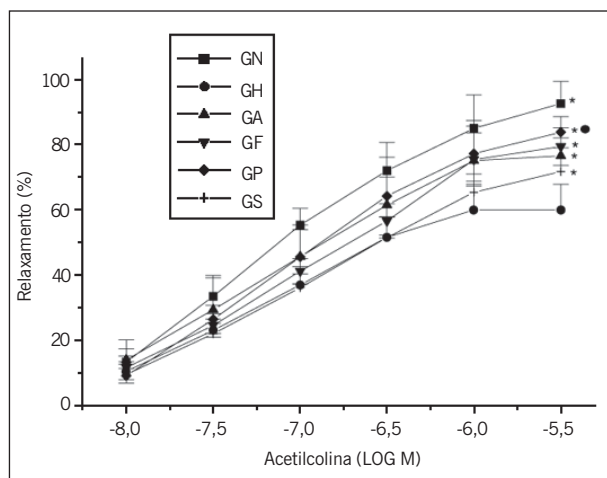


Fig. 5 - Relaxamento-dependente do endotélio de anéis aórticos pré-contraídos com norepinefrina (NE) em resposta à acetilcolina (ACH). Relaxamento expresso como porcentagem da contração induzida pela NE (10^{-7}). Os pontos representam a média e DP de dez coelhos por grupo. * $p < 0,05$ comparados com os grupos hipercolesterolêmico e normal, respectivamente. $p < 0,05$ entre os grupos.

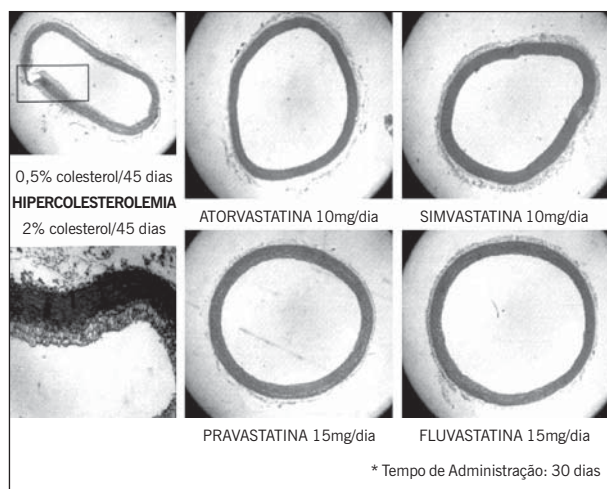


Fig. 6 - Cortes histológicas da aorta dos animais hipercolesterolêmicos e tratados com atorvastatina, fluvastatina, pravastatina e simvastatina. Observa-se expressiva regressão dos lipossomos extracelulares nos animais tratados.

vaso foi de $21,0 \pm 0,15$, $2,58 \pm 1,35$, $3,83 \pm 0,89$, $2,95 \pm 0,91$ e $3,84 \pm 1,08$ para os grupos hipercolesterolemia, atorvastatina, fluvastatina, simvastatina e pravastatina, respectivamente. As es-

tatinas reduziram significativamente ($p < 0,05$) a aterosclerose aórtica quando comparada ao grupo hipercolesterolemia, não sendo observada diferença entre os grupos tratados.

A figura 6 ilustra no canto inferior E a evolução da aterosclerose em animais tratados com dieta a 2%, em que se observa maior concentração de lipossomos extracelulares na região intimal.

O estudo histológico de fragmentos do fígado revelou esteatose moderada em todos os grupos estudados, enquanto o tecido muscular aparentou ser normal ao exame microscópico.

Os níveis de TGO e TGP encontravam-se normais em todos os grupos tratados.

Discussão

As estatinas variam consideravelmente nas suas características farmacológicas, lipofílicas, na vida média, metabolismo e outras propriedades²⁸. A pravastatina é hidrofílica, enquanto as outras estatinas são lipofílicas. A atorvastatina, a simvastatina e a fluvastatina circulam no sangue ligadas à proteína em 95 a 98%, enquanto a pravastatina circula ligada à proteína em 50%²⁹. Com exceção da pravastatina, as estatinas são metabolizadas no citocromo P450-3A4 (a fluvastatina é metabolizada no citocromo P450-2C9). Atorvastatina, fluvastatina e simvastatina, mas não a pravastatina, diminuem a migração e proliferação das células musculares lisas na parede arterial³⁰, provavelmente através do bloqueio das RhoA- e Rac1-, sinalizadoras celulares³¹. Evidentes alterações na resposta inflamatória têm sido relatadas com o uso das estatinas, incluindo a inibição das citocinas, proteína-C reativa, expressão das metaloproteinases da matriz e diminuição na adesão de monócitos na célula endotelial³². Estudos recentes, relativos às propriedades pleiotrópicas das estatinas, têm revelado sua capacidade de inibir a síntese de importantes intermediários dos isoprenoídes, que servem como ligações para uma variedade de proteínas implicadas na sinalização intracelular^{33,34}. De outro lado, estudos bem conduzidos têm revelado uma diferença na potência de ação das estatinas em reduzir o colesterol e as LDL plasmáticas^{15,16}, discutindo-se ainda um diferencial nos seus efeitos pleiotrópicos e uma suposta seletividade tissular.

O principal objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos pleiotrópicos das diversas estatinas, dentro de seus recursos, considerando os resultados controversos apontados na literatura. Assim, Pentikainen e cols.³⁵ relataram que a pravastatina é um inibidor da HMGCoA redutase com maior afinidade para os tecidos periféricos, confirmado por Germershausen e cols.³⁶, que atribuem esse achado às espécies ativas derivadas da pravastatina ligadas as proteínas em cerca de 50%, enquanto as demais estatinas encontram-se intensamente ligadas às proteínas (>95%) e as drogas menos ligadas às proteínas teriam maior penetração nos tecidos. Os inibidores da HMGCoA redutase hidrofílicos, de outro lado, podem alcançar maior concentração nas células endoteliais, aumentando assim, a atividade da NO sintase. Entretanto, a seletividade tissular dos inibidores da HMG-CoA redutase é controversa^{14,37}. Thiery e cols.³⁸, investigando a extensão da aterogênese em coelhos hipercolesterolêmicos tratados com lovastatina, simvastatina e pravastatina (15 mg/dia) observaram uma menor concentração do colesterol tissular nos animais tratados com lovastatina e simvastatina do que nos que receberam pravastatina. De Vries e cols.³⁹ afirmam que a síntese do colesterol no cristalino é

inibida pela pravastatina 100 vezes mais efetivamente que a simvastatina. Tesfamarian e cols.⁴⁰ observaram efeitos diferentes da pravastatina, simvastatina, e atorvastatina na liberação do Ca^{2+} citoplasmático e na reatividade vascular, enquanto Joukhadar e cols.⁴¹ referiram efeito similar para a atorvastatina, simvastatina e pravastatina em alguns parâmetros relativos à hemostasia e inflamação no plasma de pacientes hipercolesterolêmicos.

Entretanto, as supostas diferenças apontadas entre as estatinas, aparentemente, não teriam maior significado clínico, uma vez que os grandes estudos randomizados têm demonstrado significativa redução da mortalidade e eventos coronarianos, para as diferentes estatinas estudadas^{1,3,4,6}.

Nossos resultados mostraram que todas as estatinas foram eficientes em reduzir a peroxidação lipídica, seja nas LDL nativas ou oxidadas e também na parede arterial. Não houve diferença significativa na intensidade de efeito entre as diversas drogas. O efeito antioxidante da simvastatina⁴², da fluvastatina⁴³, da pravastatina⁴⁴, e da atorvastatina⁴⁵ tem sido referido na literatura e representa uma providência importante na preservação da função endotelial³⁴.

Quando comparadas ao grupo de animais hipercolesterolêmicos, todas as estatinas foram eficientes em reverter parcialmente a disfunção endotelial. O efeito foi semelhante para as diferentes drogas, a exceção da pravastatina, cujo efeito sobre o relaxamento-dependente do endotélio foi mais significativo. A discreta diferença na intensidade do relaxamento-dependente do endotélio verificado com a pravastatina, foi interpretado como devido a sua característica hidrofílica, mas esse achado deve ser reavaliado em outros estudos.

O aumento do relaxamento-dependente do endotélio observado nos anéis de aorta de coelhos tratados com estatinas deve estar relacionado à redução do colesterol tecidual e do estresse oxidativo da parede arterial⁴⁶, além de ação sobre mediadores de transcrição celular, não estudados neste modelo experimental. Em trabalho anterior¹⁸, verificamos que a reversão da disfunção endotelial em coelhos hipercolesterolêmicos, tratados com pravastatina e simvastatina, ocorria rapidamente, lembrando o benefício do tratamento para as síndromes coronarianas agudas.

Outro ponto que merece destaque no presente trabalho, pelas eventuais implicações clínicas, é a regressão do espessamento intimal, representado pelo acúmulo de lipossomos extracelulares. As partículas de LDL adentram à célula endotelial por um mecanismo de pinocitose, formando vesículas de pinocitose que são incorporadas em endossomos e lipossomos no citoplasma celular. Na hipercolesterolemia o material lipídico carregado pelos endossomos acumulam-se em lipossomos extracelulares na íntima da artéria. Considerando que a presença de lipossomos extracelulares representa a expressão morfológica mais precoce da aterosclerose, sua regressão significa um potencial mecanismo de controle da doença aterosclerótica. A regressão da placa de aterosclerose pelas estatinas tem sido demonstrada em diversos estudos experimentais⁴⁷⁻⁴⁹.

Estudos com ressonância magnética e espectroscopia têm revelado mobilização do conteúdo lipídico em placas de aterosclerose de animais tratados com diversas drogas⁵⁰⁻⁵².

Mais recentemente, o estudo REVERSE⁵³, veio confirmar a interrupção da progressão e mesmo uma pequena regressão da placa de aterosclerose (0,4% de redução mediana), através do ultra-som coronariano, em pacientes com doença coronariana estável. Esses resultados abrem uma excepcional perspectiva na condução da aterosclerose.

No presente trabalho, não se observou diferença significativa no efeito sobre a regressão da aterosclerose, entre as diversas estatinas estudadas. Entretanto, merece destaque que as doses das estatinas foram ajustadas para se obter valores semelhantes do colesterol plasmático nos diversos grupos, considerando a diferença de potência entre as drogas. A atorvastatina foi a de maior potência, pois utilizou-se uma menor dose para semelhante redução do colesterol plasmático entre os grupos, não se podendo analisar uma eventual diferença de efeito na regressão, levando em conta a intensidade de redução do colesterol e das LDL plasmáticas. Mais recentemente, a verificação de que a redução mais intensa das LDL-plasmáticas em pacientes com síndromes coronarianas agudas levou a um melhor benefício em relação à redução da mortalidade e outros eventos coronarianos⁵⁴, abriu a discussão sobre o melhor nível das LDL plasmáticas no controle da aterosclerose, destacando o significado da potência hipolipemiante das estatinas.

A redução mais intensa dos lípides plasmáticos faz sentido, quando se considera que a aterosclerose tem como fator causal principal o afluxo de partículas de LDL e seus epítipes para a região intimal do vaso através da célula endotelial, provocando uma resposta imunológica mediada por diversos fatores relacionados a inflamação, com mobilização de monócitos, neutrófilos e linfócitos, que vão restringir o núcleo lipídico através de uma reação predominantemente proliferativa ou instabilizar a placa por uma maior resposta celular e enzimática⁵⁵. Provavelmente, a magnitude da redução do colesterol e das LDL plasmáticas, a par de outros fatores já mencionados, teriam ação benéfica na reversão da disfunção endotelial e mobilização do núcleo lipídico da placa de aterosclerose, mormente da sua fase mais precoce, restando estabelecer o limite de segurança para a redução das LDL plasmáticas.

Os autores do estudo REVERSE⁵³ e PROVE-IT⁵⁴ destacam também, a existência de um diferencial farmacológico entre as estatinas estudadas, atorvastatina e pravastatina. Estudo experimental bem conduzido, utilizando a fluvastatina, também considera a existência de um efeito indireto da droga, independente da redução do colesterol plasmático⁵⁵ o que reabre a discussão sobre um eventual diferencial farmacológico e possível especificidade tissular entre este grupo de drogas, independente da redução dos lípides.

Neste estudo, as estatinas não alteraram a atividade enzimática hepática. Os exames histológicos mostraram aparência normal do tecido muscular e moderada esteatose hepática, provavelmente conseqüente à elevada concentração do colesterol no plasma. Não foram encontradas áreas de necrose ou reação inflamatória. Esses achados sugerem que as drogas não tiveram efeito tóxico nas doses administradas.

A ausência de reação inflamatória na camada íntima da parede vascular, a despeito da presença de lipossomos extracelulares nos coelhos hipercolesterolêmicos, reforça a idéia de que a resposta inflamatória ocorre mais tardiamente, no propósito de reparar a presença inadequada das LDL e seus epítipes na íntima arterial⁵⁶, mais uma vez reforçando a impressão de que a mais intensa redução das LDL teciduais terá efeito mais favorável no controle da doença.

Os resultados deste estudo mostraram que todas as estatinas foram efetivas em reduzir o colesterol total plasmático, o teor do MDA na parede arterial, nas LDL nativas e oxidadas, e reverter a disfunção endotelial em coelhos hipercolesterolêmicos.



Referências

- Shepherd J, Cobbe SM et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS). *N Engl J Med* 1995; 333:1301-7.
- AFCAPS/TEXCAPS, Domwms JR, Clearfield M et al. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels. *N Engl J Med* 1998;339:1349-57.
- LIPID (Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease - LIPID Study Group). *N Engl J Med* 1998;339:1349-57.
- 4S (Scandinavian Simvastatin Survival Study Group). Randomized trial of cholesterol lowering in 4,444 patients with coronary heart disease. *Lancet* 1994;344:1383-9.
- Sacks FM, Pfeffer MA et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Care Study *N Engl J Med* 1996;14:1001-9.
- The Heart Protection Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidant vitamin supplementation in 20,536 high risk individuals: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2002; 360:23-33.
- Vaughan CJ, Gotto AM, Basson CT. The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:1-10.
- Ricker PM, Rifail N, Lowenthal SP. Rapid reduction in C-reactive protein with cerivastatin among 785 patients with primary hypercholesterolemia. *Circulation* 2001; 103:1191-3.
- Bellosta S, Bernini F, Ferri N, Quarato P, Canavesi M, Arnaboldi L. Direct vascular effects of HMGCoA reductase inhibitors. *Atherosclerosis* 137:S101-S109, 1998.
- Scalia R, Appel JZ, Lefer AM. Leukocyte-endothelium interaction during the early stages of hypercholesterolemia in the rabbit. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1093-100.
- Dangas GJ, Badimon L, Smith DA, Levine A, Ambrose JA. Pravastatin therapy in hyperlipidemia. Effects on thrombus formation and the systemic hemostatic profile. *Am Coll Cardiol* 1999; 33:1294-304.
- Lefer AM, Scalia R, Lefer DJ. Vascular effects of HMG-CoA reductase inhibitors unrelated to cholesterol lowering: new concepts for cardiovascular disease. *Cardiovasc Res* 2001;49:281-7.
- Williams D, Feely J. Pharmacokinetic-pharmacodynamic drug interactions with HMG-CoA reductase inhibitors. *Clin Pharmacokinet* 2002;41:343-370.
- Corsini A, Maggi F, Catapano AL. Pharmacology of competitive inhibitors of HMGCoA reductase. *Pharmacological Res* 1995; 31:9-27.
- Dansette PM, Joen M, Pons C. HMGCoA reductase activity in human liver microsomes: comparative inhibition by statins. *Exp Tox Pathol* 2000; 52:145-8.
- Jones P, Kafonek S, Laurora I, Hunninghake, Curves investigators. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia. (The Curves Study). *Am J Cardiol* 1998; 81:582-7.
- Ribeiro JPA, Ozaki MK. Effects of simvastatin and pravastatin on endothelium-dependent relaxation in hypercholesterolemic rabbits. *Exp Toxic Pathol* 1994; 46: 465-9.
- Ribeiro JPA, Eros AA, Ozaki MR et al. Rapid reversal of endothelial dysfunction in hypercholesterolemic rabbits treated with simvastatin and pravastatin. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1997; 24:948-95.
- Cassini AF, Ferrali M, Pompella A, Maellaro E, Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissue of bromobenzene-intoxicated mice. *Am J Pathol* 1986; 123:520-531.
- Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 1955;34:1345-53.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RL. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-75.
- Parthasarathy S, Khoo JC, Miller E, Barnett J, Witztum J, Steinberg DE. Low density lipoprotein rich in oleic acid is protected against oxidative modifications: implications for dietary prevention of atherosclerosis. *Porc Natl. Acad Sci USA* 1990;87:3894-8.
- Buege, JA, Aust, SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978;52: 302-310.
- Lehr HA, Mankoff DA, Corwin D. Application of Photoshop-based analysis to quantification of hormone receptor expression in breast cancer. *J Histochem Cytochem* 1997; 45: 1559-65.
- Lehr HA, Van der Loos CM, Teeling P. Complete chromogen separation and analysis in double immunohistochemical stains using Photoshop-based image analysis. *J Histochem Cytochem* 1999; 47: 119-126.
- Fleiss JL. *Statistical Methods for Rates and Proportions*. New York: John Wiley, 2nd ed (1981).
- Milliken GA & Johnson DE. *Analysis of Messy Data. Vol I: Designed Experiments*. New York: Van Nostrand Reinhold (1984).
- Motti C, Gnasso A, Cortese C. Statins: similarities and differences in the pharmacological, clinical and laboratory aspects. *Ann Ital Med Int* 2000, 15: 96-102.
- Corsini A, Maggi FM, Catapano AL. Pharmacology of competitive inhibitors of HMG-CoA reductase. *Pharmacol Res* 1995; 31: 9-27.
- Negre-Aminou P, van Erck M, van Leeuwen RE, Collard JG, Cohen LH. Differential effect of simvastatin on various signal transduction intermediates in cultured human smooth muscle cells. *Biochim Pharmacol* 2002; 61: 991-8.
- Davignon J, Mabile L. Mechanisms of action of statins and their pleiotropic effects. *Ann Endocrinol(Paris)* 2001; 62: 101-2.
- Koh KK. Effects of statins on vascular wall: vasomotor function, inflammation and plaque stability. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 648-57.
- Takemoto M, Lia JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors. *Arterioscler Thrombo Vasc Biol* 2001;21: 1712-9.
- Hughes AD. The role of isoprenoids in vascular smooth muscle: potential benefits of statins unrelated to cholesterol lowering. *J Hum Hypertens* 1996;10:387-90.
- Cameado J, Alvarez de Sotomayor M, Perez-Guerrero C et al. Simvastatin improves endothelial function in spontaneously hypertensive rats through a superoxide dismutase mediated antioxidant effect. *J Hypertens* 2002, 20: 429-37.
- Suzumura K, Tanaka K, Yasuhara M, Narita H. Inhibitory effects of fluvastatin and its metabolites on hydrogen peroxide induced oxidative destruction of hemin and low density lipoprotein. *Biol Pharmacol Bull* 2000;23:837-78.
- Salonen R, Nyyssonen K, Porkkala-Sarataho. The Kuopio Atherosclerosis Prevention Study: effects of pravastatin treatment on lipids, oxidation resistance of lipoproteins and atherosclerosis progression. *Am J Cardiol* 1995; 76: 3.
- Wassmann S, Laufs U, Muller K et al. Cellular antioxidant effects of atorvastatin in vitro and in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22:300-5.
- Laufs V, Fata Vita BA, Plutzky J, Liao K. Up regulation of endothelial nitric oxide after lipid lowering therapy in hypercholesterolemic patients. *Circulation* 1998; 98:211-6.
- Pentikainen PJ, Saraheimo M, Swartz JJ. Comparative pharmacokinetics of lovastatin, simvastatin and pravastatin in humans. *L Clin Pharmacol* 1992;32: 136-40.
- Germershausen JI, Hunt VM, Bostedor RG. Tissue selectivity of the cholesterol-lowering agents lovastatin, simvastatin and pravastatin in rats in vivo. *Biochem Biophys Res Comm* 1989; 158:667-75.
- Endo A, Tsujita Y, Kuroda M, Tanzaka K. Effects of ML-236B on cholesterol metabolism in mice and rats: lack of hypocholesterolemic activity in normal animals. *Biochem Biophys Acta* 1979; 576: 266-76.
- Thiery J, Nebendhal K, Walli AK. Effects of three different HMGCoA reductase inhibitors on hypercholesterolemia and atherosclerosis in cholesterol fed-rabbits. *Arterioscler Tromb* 1991; 11: 148.
- De Vries AC, Vermeer MA, Bloemendal H, Coehn LH. Pravastatin and simvastatin differentially inhibit cholesterol biosynthesis human lens. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993; 34:377-84.
- Tesfamariam B, Frohlich BH, Gregg RE. Differential effects of pravastatin, simvastatin, and atorvastatin on Ca⁺ + release and vascular reactivity. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 34:95-101.
- Joukhadar C, Klein N, Schrolnberger C, Vukovich T, Wolz M, Dorner GT. Similar effects of atorvastatin, simvastatin, simvastatin and pravastatin on thrombogenic and inflammatory parameters in patients with hypercholesterolemia. *Thromb Haemost* 2001;85:47-51.
- Armstrong ML. Regression of coronary atheromatosis in rhesus monkeys. *Circ Res* 1975; 36: 256.
- Vesselinovith D. Reversal of advanced atherosclerosis in rhesus monkeys. Light microscopic studies. *Atherosclerosis* 1976; 23:155.
- David AS. Regression of advanced atherosclerosis in swine. *Arch Pathol Lab Med* 1976; 100: 372.
- Helf G, Worthley SG, Fuster V, Fayad ZA, Zaman AG, Corti R, Fallon JT, Badimon JJ. Progression and regression of atherosclerotic lesions: monitoring with serial noninvasive magnetic resonance imaging. *Circulation* 2002; 105:993-8.
- Moreno PR, Lodder RA, Purushothaman KR, Charash WE, Oconnor WN, Muller JE. Detection of lipid pool, thin fibrous cap, and inflammatory cells in human aortic atherosclerotic plaque by near-infrared spectroscopy. *Circulation* 2002; 105:923-7.
- Van de Poell SW, Delsin DJ, Jukema JW et al. Raman spectroscopic investigation of atorvastatin, amlodipine, on atherosclerotic plaque development in ApoE3 Leiden transgenic mice. *Atherosclerosis* 2000; 164:65-71.
- Nissen SE, Tuzcu EM, Soehnagen P et al. Effects of intensive compared with moderate lipid-lowering therapy on progression of coronary atherosclerosis: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 291:1071-80.
- Cannon PC, Braunwald E, McCabe CH et al. Comparison of intensive and moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndroms. *N Engl J Med* 2004; 350:15.
- Mitoni H, Egashira K, Kimura M. Fluvastatin has cholesterol-lowering independent "direct effects" on atherosclerotic vessels in high cholesterol diet-fed rabbits. *Pharmacol Res* 2003; 48: 417-27.
- Jorge PAR. Endotélio, lípidos e aterosclerose. *Arq Bras Cardiol* 1997; 68: 129-34.