

## Gli effetti biologici delle statine nella malattia aterosclerotica

### Biological effects of statins in atherosclerosis

#### Summary

Statins are the most widely prescribed drugs worldwide for lowering blood cholesterol levels. They have been used for over 15 years, and have been found to be effective, safe and well tolerated over a broad range of patients. Their main mechanism of action is based on the competitive inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, the enzyme responsible for cholesterol biosynthesis. Both basic and clinical studies have however recently shown that statins also reduce cardiovascular risk through other mechanisms apart from cholesterol reduction, such as improvement of endothelial dysfunction, inhibition of inflammatory responses, stabilization of atherosclerotic plaques, and modulation of platelet function and smooth muscle cell proliferation. Conflicting data are currently available on the efficacy of statins in restenosis after balloon angioplasty. It is well established that smooth muscle cell proliferation is the main mechanism responsible for restenosis after arterial balloon angioplasty, and that it contributes towards restenosis even after arterial stenting (in-stent restenosis). Several studies indicate that statins strongly affect the *in vitro* VSMC proliferation. In this review, we report recent data of ours that show hitherto unknown molecular effects of statins, in particular on smooth muscle cell proliferation and arterial restenosis.

Franzone A, Schiattarella GG, Capretti G, et al. Biological effects of statins in atherosclerosis. *Trends Med* 2009; 9(1):19-26.

© 2009 Pharma Project Group srl. ISSN: 1594-2848

**Anna Franzone, Gabriele Giacomo Schiattarella, Giuliana Capretti, Sabato Sorrentino, Gianluigi Pironti, Anna Sannino, Cinzia Perrino, Giovanni Esposito, Massimo Chiariello**  
Cattedra di Cardiologia, Dipartimento di Medicina Clinica, Scienze Cardiovascolari ed Immunologiche, Università Federico II, Napoli

**Key words:**  
**statin**  
**atherosclerosis**  
**restenosis**  
**pleiotropism**

✉ **Giovanni Esposito MD, PhD**  
Cattedra di Cardiologia  
Dipartimento di Medicina Clinica,  
Scienze Cardiovascolari ed  
Immunologiche  
Università Federico II  
Via Pansini 5 - 80131 Napoli  
Tel: +39 081 746 2216  
Fax: +39 081 746 2223  
E-mail: espogiov@unina.it

L'aterosclerosi rappresenta la causa più frequente di mortalità e morbilità nel mondo occidentale, con una prevalenza che cresce parallelamente all'aumento della durata media della vita. Tale processo è espressione di una malattia cronica e sistemica, con la tendenza a colpire contemporaneamente vari distretti vascolari e la cui patogenesi coinvolge complessi meccanismi molecolari. L'eziologia, multifattoriale, riconosce un ruolo determinante alla presenza di differenti fattori di rischio che, spesso, sono presenti in associazione e si potenziano a vicenda. Gli eventi fisiopatologici primariamente coinvolti nello sviluppo delle lesioni aterosclerotiche sono rappresentati dalla disfunzione del-

l'endotelio vasale e dall'avvio di una deleteria risposta infiammatoria<sup>1</sup>. Il processo tende a colpire vari distretti vascolari contemporaneamente e con gradi diversi di progressione. Le arterie principalmente coinvolte sono quelle deputate all'irrorazione del cuore (arterie coronarie), del cervello (arterie carotidi, vertebrali e cerebrali) e degli arti inferiori (arterie iliache e femorali). L'aterosclerosi documentata a carico di un determinato letto vasale si associa ad un rischio elevato di coinvolgimento di altri distretti<sup>2</sup>. Pur essendo la formazione e lo sviluppo della lesione aterosclerotica un evento multifattoriale, tuttavia è stata da tempo stabilita una chiara associazione tra gli elevati livelli sierici di

colesterolo e l'aumentata incidenza di tale patologia<sup>3</sup>. L'avvento degli inibitori della 3-idrossi-3 metilglutaril CoA reductasi (statine) ha rivoluzionato il trattamento dell'ipercolesterolemia. Attualmente le statine sono i farmaci più utilizzati per la loro elevata efficacia nella riduzione dei livelli di colesterolo totale e LDL, nonché per l'eccellente tollerabilità e maneggevolezza. Numerosi studi clinici quali lo Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S)<sup>4</sup>, Cholesterol and Recurrent Events (CARE)<sup>5</sup>, Long-term intervention with Pravastatin in Ischemic Disease (LIPID)<sup>6</sup>, West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS)<sup>7</sup> e l'Anglo-Scandinavian Cardiac Outcome Trial Lipid-lowering Arm (ASCOT-LLA)<sup>8</sup> hanno dimostrato che le statine riducono la mortalità cardiovascolare<sup>6</sup>. Com'è noto, tali farmaci agiscono inibendo la tappa limitante la biosintesi del colesterolo a livello epatico; la ridotta concentrazione di colesterolo negli epatociti determina un aumento della esposizione dei recettori per le LDL favorendo, così, una riduzione dei livelli circolanti di LDL e dei loro precursori. Sebbene il meccanismo d'azione principale sia rappresentato dalla sua ridotta biosintesi, la capacità di ridurre anche la produzione epatica della apolipoproteina B100 e di lipoproteine ricche in trigliceridi rende conto dell'efficacia di alcune statine anche in soggetti con omozigosi per l'ipercolesterolemia familiare, nei quali non vi è praticamente sintesi di recettori funzionanti. Il principale effetto metabolico delle statine è rappresentato

dalla riduzione dei livelli di LDL (dal 19% al 60% in base alla dose e al tipo di molecola utilizzata) con modesto innalzamento dei livelli di HDL. L'azione sui trigliceridi appare proporzionale ai livelli basali e correlata alla capacità del farmaco di ridurre i livelli di LDL.

### Effetti pleiotropici delle statine

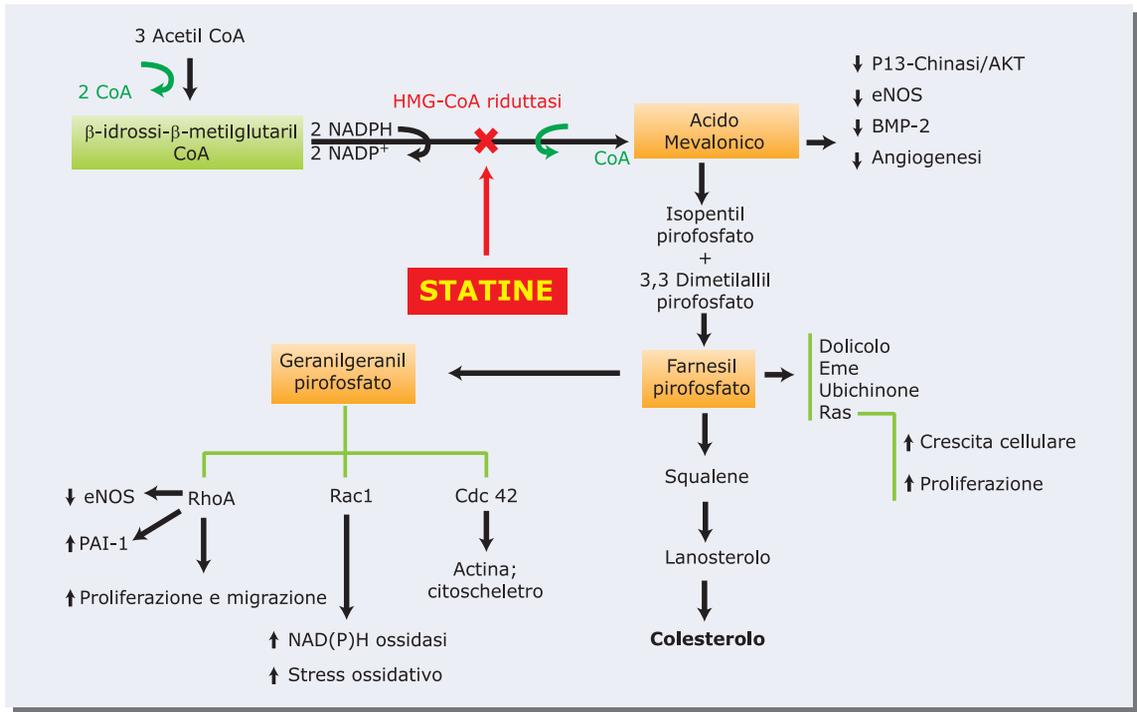
Si è da tempo ritenuto che gli effetti anti aterosclerotici delle statine fossero attribuibili a tali azioni sul metabolismo lipidico, dal momento che l'aterosclerosi è mediata, almeno in parte, dalla captazione di LDL modificate, le quali, a livello della parete arteriosa, vanno a costituire il core lipidico della lesione aterosclerotica<sup>9</sup>. I risultati di numerosi studi clinici e sperimentali, però, hanno dimostrato che gli effetti benefici delle statine nella riduzione del rischio cardiovascolare possono essere dissociati dalle loro proprietà ipolipidemizzanti e attribuibili piuttosto ai loro numerosi effetti cosiddetti "pleiotropici". A tal riguardo, gli studi WOSCOP (West of Scotland Coronary Prevention) e CARE (Cholesterol and Recurrent Events) hanno mostrato che nonostante livelli sierici di colesterolo sovrapponibili tra i due gruppi di studio, i pazienti in trattamento con statine avevano un rischio cardiovascolare significativamente più basso dei pazienti trattati con placebo<sup>5,7</sup>. Inoltre, il rischio di infarto miocardico acuto in pazienti trattati con statine si è rivelato di gran lunga minore rispetto ai pazienti in trattamento con altri agenti ipolipidemizzanti no-

nostante la riduzione dei livelli sierici di colesterolo tra i due gruppi di studio fosse sovrapponibile<sup>10</sup>.

E' noto ormai che gli effetti pleiotropici degli inibitori dell'HMG-CoA reductasi comprendono: il miglioramento e il ripristino della funzione endoteliale; la stabilizzazione delle placche aterosclerotiche; la riduzione dello stress ossidativo e dell'infiammazione a livello vascolare; la modulazione dell'attività pro-coagulante e della funzione piastrinica; la capacità di reclutare i progenitori delle cellule endoteliali (EPCs); l'azione immunosoppressiva; l'inibizione dell'ipertrofia cardiaca<sup>11,12</sup> e della proliferazione delle cellule muscolari lisce vasali (SMC)<sup>13</sup>.

Molti di questi effetti esercitati dalle statine sono, in gran parte, la conseguenza della loro capacità di bloccare la sintesi di intermedi isoprenoidi, quali il farnesilpirofosfato (FPP) e il geranilgeranilpirofosfato (GGPP), che svolgono un ruolo importante in molte vie di segnalazione molecolare. Questi intermedi biosintetici agiscono da importanti siti per le modificazioni post-traduzionali di numerose proteine, incluse le subunità  $\gamma$  delle proteine G eterotrimeriche e le piccole proteine leganti il GTP come Ras, Rho, Rab, Rac (figura 1). Per tali proteine, l'isoprenilazione è indispensabile per l'ancoraggio alla membrana plasmatica e per produrre i normali effetti biologici. Inibendo l'isoprenilazione di proteine leganti il GTP come Ras, Rho, Rab e Rac, le statine determinano un accumulo delle forme inattive di tali proteine nel citoplasma e numerosi effetti biolo-

**Figura 1.** Via biosintetica del colesterolo e meccanismi molecolari degli effetti biologici delle statine.



gici a livello della parete vasale e del miocardio.

**Meccanismi fisiopatologici della restenosi dopo angioplastica vascolare**

Un importante strumento terapeutico per il trattamento delle lesioni aterosclerotiche stabili e soprattutto delle placche aterosclerotiche complicate da aterotrombosi è rappresentato dall'angioplastica dei vasi coronarici ed extra-cardiaci. Tali procedure sono gravate, nonostante progressi notevoli nella tecnica, dal fenomeno della restenosi. E' ben chiaro, oggi, che la migrazione e la proliferazione delle cellule muscolari lisce è il principale meccanismo responsabile della restenosi. In un nostro recente studio abbiamo dimostrato che le statine sono capaci di ridurre la

proliferazione delle cellule muscolari lisce, l'evento centrale nella patogenesi di molte lesioni vascolari tra cui, in particolare, la restenosi dopo angioplastica vasale. Sebbene l'impianto di stent (in particolare di quelli medicati che rilasciano alte concentrazioni locali di agenti antiproliferativi e immunosoppressivi), si sia dimostrato capace di ridurre la frequenza di restenosi rispetto all'angioplastica con palloncino, la trombosi intrastent rappresenta un problema emergente e significativo, soprattutto nei pazienti ad alto rischio. Il ruolo delle statine nella prevenzione degli eventi trombotici dopo impianto di stent medicati è attualmente sconosciuto.

La restenosi riconosce tre eventi fisiopatologici distinti: 1) la retrazione vascolare che fa seguito immediatamente all'insulto meccanico, 2) il ri-

modellamento negativo della parete arteriosa 3) l'iperplasia neointimale<sup>11</sup>. La retrazione elastica consiste nel restringimento del vaso che si verifica normalmente entro 24 ore dalla procedura percutanea ed è dovuta alle proprietà elastiche della parete arteriosa. Il rimodellamento negativo è un processo di contrazione locale della parete arteriosa e di riduzione dell'area vasale, probabilmente mediato dalla interazione tra le cellule endoteliali e il flusso sanguigno non laminare. L'iperplasia della neointima prevede la proliferazione e la migrazione delle SMC dalla media e la mobilitazione di cellule staminali dal midollo osseo verso l'intima con invasione, poi, del lume vascolare.

La retrazione elastica e il rimodellamento negativo sono i meccanismi primariamente responsabili della restenosi fa-

cente seguito all'angioplastica con palloncino; essi sono stati in buona parte ridimensionati o addirittura eliminati grazie all'impiego degli stent. Il terzo meccanismo, la proliferazione della neointima, rappresenta quindi il principale evento responsabile della patogenesi della restenosi intra stent soprattutto durante utilizzo di endoprotesi non medicate. Un ruolo rilevante è svolto, inoltre, da altri eventi quali la produzione di abbondante matrice extracellulare e la ridotta frequenza con cui le SMC vanno incontro ad apoptosi<sup>14,15</sup>.

### **Meccanismi coinvolti nella proliferazione delle cellule muscolari lisce**

La superficie endoteliale denudata per effetto del trauma meccanico conseguente all'impianto di stent attiva una risposta infiammatoria che porta alla adesione, attivazione e aggregazione delle piastrine e di conseguenza alla deposizione di fibrina con formazione di un trombo all'interno dello stent (fase trombotica: 0-3 gg dopo la procedura). Questi microtrombi, insieme al danno meccanico della parete vasale, richiamano cellule infiammatorie come macrofagi e linfociti che abbandonano il flusso ematico (fase di reclutamento: 3-8 gg). Tali cellule stimolano la produzione di vari fattori di crescita e citochine che attivano localmente le VSMC quiescenti nella tonaca media; inoltre, esse possono indurre le cellule staminali circolanti a rientrare nel ciclo cellulare e a moltiplicarsi. Le SMC proliferanti migrano, così, nell'intima e

formano un trombo nel lume dello stent (fase proliferativa: 8° g). La proliferazione cellulare termina circa due settimane dopo l'impianto dello stent; le SMC, tuttavia, continuano a produrre abbondante matrice extracellulare che causa un aumento di volume della tonaca intima. È proprio questo processo di crescita neointimale che, quando diventa esuberante, invade il lume vascolare e porta a restenosi. Siccome quanto più è profondo l'insulto tanto maggiore è lo stimolo iperplastico, l'impianto di stent è responsabile di una crescita neointimale maggiore rispetto all'angioplastica convenzionale.

### **Effetti delle statine sulla proliferazione delle cellule muscolari lisce dopo angioplastica vascolare**

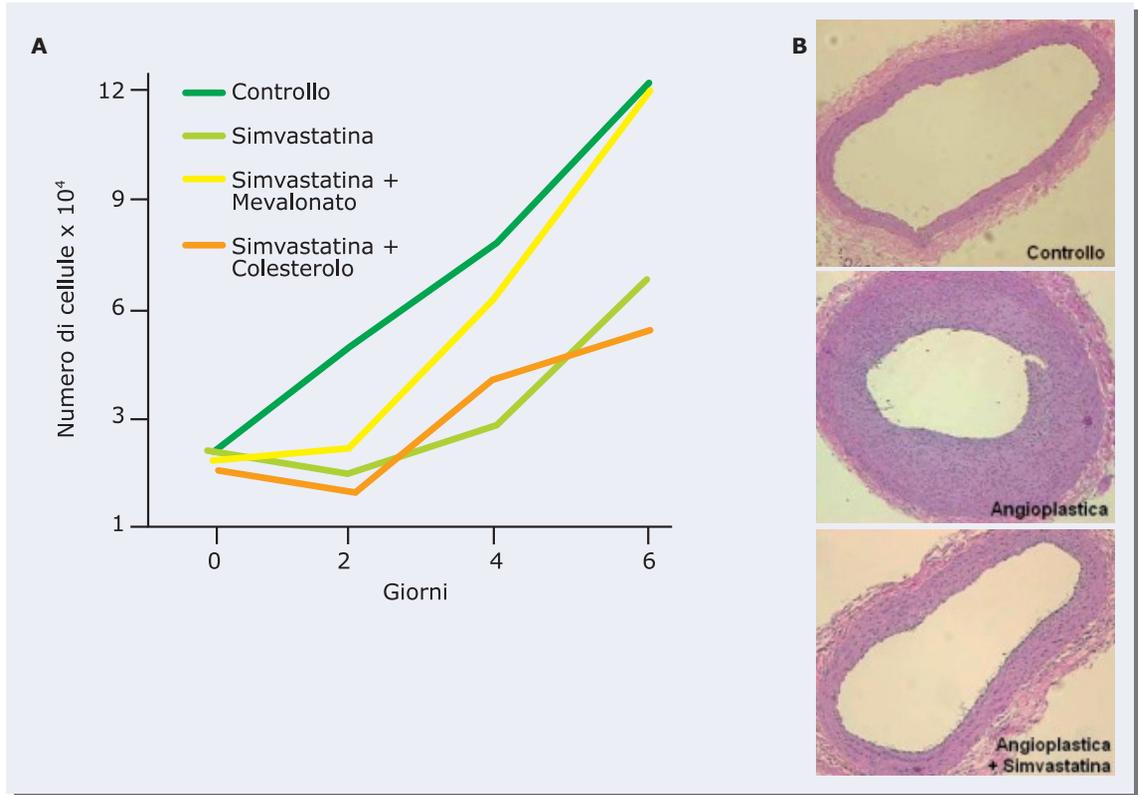
In condizioni normali, le cellule muscolari lisce risiedono nella tonaca media della parete vasale in uno stato quiescente, completamente differenziate e dotate di proprietà contrattili. Tali cellule possono essere rapidamente attivate in risposta ad insulti di vario tipo; l'attivazione è associata al passaggio da un fenotipo contrattile ad uno "sintetico" che favorisce, a sua volta, la proliferazione di altre SMC e la loro migrazione, oltreché la sintesi di matrice extracellulare<sup>16</sup>.

Laufs e collaboratori<sup>17-19</sup> hanno dimostrato che alcuni degli effetti delle statine sulle SMC sono indipendenti dalle loro proprietà ipolipidizzanti e mediati, piuttosto, dalla inibizione della sintesi di composti isoprenoidi<sup>20</sup>. Gli studi di Porter et al. hanno

dimostrato che le statine possono ridurre la migrazione e la proliferazione delle SMC dell'aorta di ratto interferendo con vie di segnalazione molecolare che coinvolgono proteine isoprenilate<sup>21</sup>.

Un contributo alla conoscenza dei meccanismi molecolari coinvolti nella inibizione della iperplasia della neointima è giunto anche da studi sperimentali condotti dal nostro gruppo. I risultati di tali studi hanno dimostrato che la simvastatina inibisce in maniera marcata la proliferazione di cellule muscolari lisce isolate dall'aorta toracica di ratto (figura 2A). Gli effetti in vivo sono stati valutati ricorrendo ad un modello standardizzato di danno vascolare (balloon injury), che riproduce il trauma conseguente all'angioplastica percutanea e realizzato attraverso l'introduzione di un catetere da embolectomia (2F Fogarty) nella carotide esterna di ratti anestetizzati e l'insufflazione del palloncino a 1.5 atm per 18 sec, ripetendo l'operazione per 3 volte. Tale modello realizza uno stimolo massimale per l'iperplasia della neointima che raggiunge un plateau 14 giorni dopo la procedura. La somministrazione di simvastatina agli animali secondo tempi e dosi variabili in base a diversi protocolli seguiti, riduceva lo spessore della neointima, (da  $0.266 \pm 0.015 \text{ mm}^2$  nei controlli a  $0.080 \pm 0.026 \text{ mm}^2$ ) e il rapporto neointima-media (da  $1.271 \pm 0.074$  a  $0.436 \pm 0.158$ ). Tale effetto risultava essere dose-dipendente (figura 2B). In un altro gruppo di esperimenti è stato valutato l'effetto della simvastatina sulla proliferazione della neointima conseguente all'impianto

**Figura 2.** Effetti delle statine sulla proliferazione delle cellule muscolari lisce in vitro e in vivo. A. La simvastatina inibisce in maniera significativa la proliferazione delle SMC rispetto al controllo; tale effetto viene completamente perso in seguito all'aggiunta di mevalonato al mezzo di coltura. B. Sezioni istologiche rappresentative colorate con ematossilina-eosina di arterie carotidi comuni: il trattamento con statine (Angioplastica + Simvastatina) riduce l'intensa proliferazione neointimale che di norma si osserva dopo balloon injury (Angioplastica) rispetto ad arterie di controllo non danneggiate (Controllo).



to di stent osservando una percentuale di trombosi vasale pari al 30% nel gruppo di controllo e pari a 11.1% nei ratti trattati con simvastatina (figura 2B).

I meccanismi molecolari alla base di tali effetti sono stati individuati nel ruolo principale svolto dalle statine: l'inibizione dell'enzima 3-idrossi-3-metilglutaril CoA reduttasi che svolge un ruolo chiave nel pathway del mevalonato. L'acido mevalonico è necessario, infatti, per la produzione del colesterolo ma è anche il precursore di vari intermedi isoprenoidi come il farnesilpicrofosfato (FPP) ed il geranilgeranilpicrofosfato (GGPP).

Tali intermedi biosintetici sono importanti per le modificazioni post traduzionali di una serie di proteine tra cui le proteine leganti il GTP Ras e Rho<sup>20</sup>. Numerosi studi, tra cui i nostri, hanno dimostrato che le proteine Ras e Rho sono importanti per la proliferazione e la migrazione delle SMC e per la formazione di neointima<sup>22</sup>. Gli effetti inibitori che le statine esercitano sulla proliferazione delle SMC dipendono, almeno in parte, dall'inibizione della isoprenilazione di Ras e Rho. Numerose evidenze sperimentali supportano questa ipotesi; su tutte, il riscontro che la trasfezione mediata da un adenovirus del

gene H-ras dominante negativo previene l'iperplasia della neointima in ratti sottoposti a balloon injury<sup>13</sup>. Inoltre, le statine si sono rivelate capaci di inibire anche il processo di migrazione delle fibrocellule muscolari lisce durante la formazione della neointima o dell'ateroma<sup>21</sup>. Tale processo richiede dapprima la degradazione della membrana basale e poi la migrazione delle cellule richiamate in loco da stimoli chemiotattici. Ulteriori studi hanno anche osservato che la simvastatina inibisce l'invasione delle SMC mediante l'inibizione di una metalloproteasi (MMP-9)<sup>21</sup>. Questi dati sperimentali sono stati

confermati in studi clinici che dimostrano che la simvastatina e la pravastatina riducono i livelli sierici di MMP-9 in pazienti ipercolesterolemici<sup>17,23</sup>. Tali evidenze suggeriscono che le statine inibiscono l'invasione cellulare non solo interferendo con la migrazione cellulare ma anche impedendo la degradazione della matrice extracellulare. L'effetto antiproliferativo esibito dagli inibitori dell'HMG-CoA riduttasi sulle SMC pare mediato anche dall'induzione di apoptosi. La morte cellulare programmata controlla la densità delle cellule della neointima: la numerosità delle SMC nella neointima, infatti, è il risultato di un equilibrio che s'instaura tra la migrazione delle cellule dalla tonaca media e la loro seguente proliferazione o morte. Le statine sono capaci d'indurre apoptosi in varie linee cellulari<sup>24,25</sup>. E' stato inoltre dimostrato che il siero di pazienti ipercolesterolemici trattati con atorvastatina o con simvastatina inibisce la proliferazione di cellule muscolari lisce in coltura<sup>26,27</sup>. Studi recenti dimostrano che anche le SMC sono suscettibili di tale effetto<sup>28</sup> con una sensibilità che varia in maniera significativa tra le SMC localizzate nella tonaca media e quelle che si trovano nella neointima. Queste ultime, in particolare, si sono rivelate altamente sensibili alla lovastatina, simvastatina e fluvastatina piuttosto che alla pravastatina<sup>29</sup>.

### Effetti delle statine sullo sviluppo di ipertrofia miocardica

L'ipertrofia cardiaca rappresenta uno dei principali me-

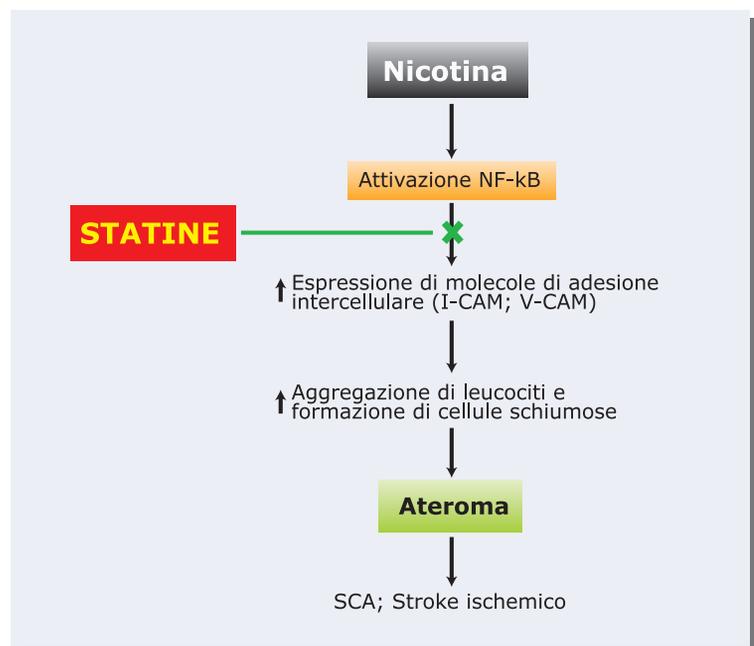
canismi di adattamento del tessuto miocardico in risposta al sovraccarico di pressione. Un nostro recente studio ha dimostrato l'efficacia delle statine nel ridurre lo sviluppo di ipertrofia cardiaca indotta da sovraccarico pressorio in un modello murino di ipertrofia cardiaca<sup>30</sup>. Nel tessuto miocardico, le proteine Ras, Rho e Rac mediano la risposta ipertrofica a diversi stimoli fisiologici o patologici<sup>31,32</sup> in associazione allo stress ossidativo. Sebbene il più importante effetto terapeutico delle statine sulle malattie cardiovascolari sia riconosciuto essere primariamente di tipo vascolare, recenti studi condotti sia su animali sia sull'uomo suggeriscono che le statine possano anche esercitare un effetto favorevole direttamente sul tessuto miocardico. Poichè Rac1 è richiesto per l'attività della

NADPH ossidasi e l'ipertrofia cardiaca è mediata, almeno in parte, dalla produzione di radicali liberi dell'ossigeno (ROS) nel tessuto miocardico, è verosimile che le statine possano ridurre l'ipertrofia cardiaca attraverso un effetto antiossidante dipendente dalla inibizione di Rac1 mediato dalla geranyl-geranilazione (figura 1).

### Effetti delle statine sull'espressione delle molecole di adesione cellulare

L'abitudine al fumo comporta un rischio aumentato di sindromi coronariche acute e stroke ischemico<sup>33</sup>. La nicotina esercita effetti protrombotici e proaterosclerotici sulle cellule della parete vasale come le cellule endoteliali e le cellule muscolari lisce, pro-

**Figura 3.** Effetti della nicotina sulle molecole di adesione cellulare e sulla formazione della placca aterosclerotica. Le statine inibiscono l'aumento dell'espressione delle molecole di adesione cellulare indotto dalla nicotina attraverso l'inibizione di NF-κB generato dall'azione diretta della nicotina sui leucociti.



muovendo un aumento dell'espressione delle molecole di adesione cellulare (CAMs) tra cui ICAM1 e VCAM1 che svolgono un ruolo chiave nel reclutamento dei leucociti nello spazio sub-endoteliale e quindi nella formazione della placca aterosclerotica<sup>34</sup>.

Le statine determinano una marcata attenuazione delle lesioni aterosclerotiche<sup>35</sup> inibendo l'espressione delle molecole di adesione indotta dalla nicotina su cellule endoteliali coronariche umane. Tale effetto è esercitato in maniera dose-dipendente ed è completamente perso in seguito all'aggiunta di mevalonato alle cellule in coltura (figura 3).

La nicotina favorisce l'espressione delle molecole di adesione sulla superficie delle cellule endoteliali, attivando il pathway mediato da NF-κB, un fattore di trascrizione nucleare normalmente presente nel citosol di molte cellule come i linfociti, i monociti, le cellule endoteliali e le muscolari lisce in forma inattiva. Numerosi stimoli pro-aterosclerotici inducono la traslocazione dell'NF-κB nel nucleo, dove esso

induce la trascrizione di geni che codificano per le molecole di adesione cellulare.

I risultati di numerosi studi hanno dimostrato che le statine inibiscono l'attivazione del pathway dell'NF-κB riducendo, in tal modo, gli effetti che la nicotina esercita sulle cellule endoteliali<sup>36</sup>. In particolare, le molecole lipofile come la simvastatina, la lovastatina e la fluvastatina hanno un effetto inibitorio più pronunciato sull'NF-κB rispetto alle molecole idrofile come la pravastatina.

## Conclusioni

Le statine esercitano numerosi effetti pleiotropici in aggiunta alla riduzione dei livelli sierici di colesterolo. Queste proprietà aggiuntive includono effetti benefici sulla funzione endoteliale e sul flusso sanguigno, la riduzione dell'ossidazione delle LDL, l'aumento della stabilità delle placche aterosclerotiche, l'inibizione della proliferazione delle cellule muscolari lisce vascolari e della aggregazione piastrinica e la riduzione dell'in-

fiammazione vascolare. Evidenze recenti suggeriscono che molti di questi effetti sono mediati dall'effetto inibitorio delle statine sulla sintesi di intermedi isoprenoidi, che sono indispensabili per una corretta localizzazione intracellulare ed attivazione di proteine quali Ras e Rho. Le statine, inoltre, svolgono un ruolo favorevole nella riduzione del rischio di restenosi precoce post-PTCA indipendente dalla riduzione dei livelli sierici di colesterolo LDL. Studi in vitro e in vivo hanno dimostrato che tale azione è mediata dall'inibizione svolta dalla sintesi di intermedi isoprenoidi coinvolti nella migrazione e proliferazione delle VSMC e dalla riduzione di apoptosi delle stesse che è un fattore chiave di controllo della densità cellulare della neointima. Studi ulteriori saranno necessari per meglio definire in che modo gli effetti pleiotropici delle statine possano contribuire ad una riduzione del rischio cardiovascolare in maniera indipendente dalla riduzione dei livelli di colesterolo. **TiM**

## Bibliografia

1. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 5:1135-1143.
2. Hiatt WR, Hoag S, Hamman RF. Effect of diagnostic criteria on the prevalence of peripheral arterial disease. The San Luis Valley Diabetes Study. *Circulation* 1995; 91:1472-1479.
3. Gordon T, Kannel WB. Premature mortality from coronary heart disease. The Framingham study. *JAMA* 1971; 215:1617-1625.
4. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994; 344:1383-1389.
5. Sacks FM, Pfeffer MA, Moyer LA, et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators. *N Engl J Med* 1996; 335:1001-1009.
6. 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. *N Engl J Med* 1998; 339:1349-1357.
7. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med* 1995; 333:1301-1307.
8. Sever PS, Dahlof B, Poulter NR, et al. Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial—Lipid

- Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2003; 361:1149-1158.
9. **Ross R.** The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362:801-809.
  10. **Brown BG, Zhao XQ, Sacco DE, et al.** Lipid lowering and plaque regression. New insights into prevention of plaque disruption and clinical events in coronary disease. *Circulation* 1993; 87:1781-1791.
  11. **Hoffmann R, Mintz GS, Dussailant GR, et al.** Patterns and mechanisms of in-stent restenosis. A serial intravascular ultrasound study. *Circulation* 1996; 94:1247-1254.
  12. **Indolfi C, Stabile E, Perrino C, et al.** Mechanisms of restenosis after angioplasty and approach to therapy. *Int J Mol Med* 1998; 2:143-148.
  13. **Indolfi C, Cioppa A, Stabile E, et al.** Effects of hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor simvastatin on smooth muscle cell proliferation in vitro and neointimal formation in vivo after vascular injury. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35:214-221.
  14. **Hauastetter A, Izumo S.** Apoptosis: basic mechanisms and implications for cardiovascular disease. *Circ Res* 1998; 82:1111-1129.
  15. **Isner JM, Kearney M, Bortman S, et al.** Apoptosis in human atherosclerosis and restenosis. *Circulation* 1995; 91:2703-2711.
  16. **Work LM, McPhaden AR, Pyne NJ, et al.** Short-term local delivery of an inhibitor of Ras farnesyltransferase prevents neointima formation in vivo after porcine coronary balloon angioplasty. *Circulation* 2001; 104:1538-1543.
  17. **Laufs U, Marra D, Node K, et al.** 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* 1999; 274:21926-21931.
  18. **Laufs U, Liao JK.** Post-transcriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase mRNA stability by Rho GTPase. *J Biol Chem* 1998; 273:24266-24271.
  19. **Laufs U, La Fata V, Plutzky J, et al.** Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation* 1998; 97:1129-1135.
  20. **Kouchi H, Nakamura K, Fushimi K, et al.** Manumycin A, inhibitor of ras farnesyltransferase, inhibits proliferation and migration of rat vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 264:915-920.
  21. **Porter KE, Naik J, Turner NA, et al.** Simvastatin inhibits human saphenous vein neointima formation via inhibition of smooth muscle cell proliferation and migration. *J Vasc Surg* 2002; 36:150-157.
  22. **Kalela A, Laaksonen R, Lehtimäki T, et al.** Effect of pravastatin in mildly hypercholesterolemic young men on serum matrix metalloproteinases. *Am J Cardiol* 2001; 88:173-175, A176.
  23. **Chamley JH, Campbell GR, McConnell JD, et al.** Comparison of vascular smooth muscle cells from adult human, monkey and rabbit in primary culture and in subculture. *Cell Tissue Res* 1977; 177:503-522.
  24. **Jones KD, Couldwell WT, Hinton DR, et al.** Lovastatin induces growth inhibition and apoptosis in human malignant glioma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 205:1681-1687.
  25. **Arends MJ, McGregor AH, Toft NJ, et al.** Susceptibility to apoptosis is differentially regulated by c-myc and mutated Ha-ras oncogenes and is associated with endonuclease availability. *Br J Cancer* 1993; 68:1127-1133.
  26. **Arnaboldi L, Guzzetta M, Pazzucconi F, et al.** Serum from hypercholesterolemic patients treated with atorvastatin or simvastatin inhibits cultured human smooth muscle cell proliferation. *Pharmacol Res* 2007; 56:503-508.
  27. **Corsini A, Bellosta S, Baetta R, et al.** New insights into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins. *Pharmacol Ther* 1999; 84:413-428.
  28. **Knapp AC, Huang J, Starling G, et al.** Inhibitors of HMG-CoA reductase sensitize human smooth muscle cells to Fas-ligand and cytokine-induced cell death. *Atherosclerosis* 2000; 152:217-227.
  29. **Massy ZA, Guijarro C.** Statins: effects beyond cholesterol lowering. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16:1738-1741.
  30. **Indolfi C, Di Lorenzo E, Perrino C, et al.** Hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor simvastatin prevents cardiac hypertrophy induced by pressure overload and inhibits p21ras activation. *Circulation* 2002; 106:2118-2124.
  31. **Thorburn J, Xu S, Thorburn A.** MAP kinase- and Rho-dependent signals interact to regulate gene expression but not actin morphology in cardiac muscle cells. *EMBO J* 1997; 16:1888-1900.
  32. **Wang SM, Tsai YJ, Jiang MJ, et al.** Studies on the function of rho A protein in cardiac myofibrillogenesis. *J Cell Biochem* 1997; 66:43-53.
  33. **Ockene IS, Miller NH.** Cigarette smoking, cardiovascular disease, and stroke: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. American Heart Association Task Force on Risk Reduction. *Circulation* 1997; 96:3243-3247.
  34. **O'Brien KD, McDonald TO, Chait A, et al.** Neovascular expression of E-selectin, intercellular adhesion molecule-1, and vascular cell adhesion molecule-1 in human atherosclerosis and their relation to intimal leukocyte content. *Circulation* 1996; 93:672-682.
  35. **Calabro P, Yeh ET.** The pleiotropic effects of statins. *Curr Opin Cardiol* 2005; 20:541-546.
  36. **Ortego M, Bustos C, Hernandez-Presa MA, et al.** Atorvastatin reduces NF-kappaB activation and chemokine expression in vascular smooth muscle cells and mononuclear cells. *Atherosclerosis* 1999; 147:253-261.