



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA
"TOR VERGATA"**

FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

DOTTORATO DI RICERCA IN
FISIOPATOLOGIA SPERIMENTALE

XXI CICLO

EFFETTI VASCOLARI E METABOLICI DELLE STATINE IN UNA COORTE DI
PAZIENTI AFFETTI DA DIABETE TIPO 2 E DISLIPIDEMIA SECONDARIA

Dott. Alfonso Bellia

A.A. 2008/2009

Docente Guida: Prof. Davide Lauro

Coordinatore: Prof. Renato Lauro

INDICE

1. INTRODUZIONE.....	3
2. CONSIDERAZIONI GENERALI SULLE STATINE.....	4
2.1 Meccanismo di azione e biochimica delle statine.....	4
2.2 Effetti su lipidi e lipoproteine plasmatiche.....	5
2.3 Reazioni avverse alle statine.....	6
3. STATINE E RISCHIO CARDIOVASCOLARE.....	7
3.1 Studi di prevenzione secondaria.....	7
3.2 Studi di prevenzione primaria.....	8
4. EFFETTI PLEIOTROPICI DELLE STATINE.....	10
4.1 Evidenze dagli studi in vitro.....	11
4.2 Effetti anti-infiammatori.....	16
4.3 Effetti sulla disfunzione endoteliale.....	19
4.4 Effetti anti-ossidanti.....	22
4.5 Effetti sul sistema immunitario.....	23
4.6 Effetti addizionali.....	24
5. EFFETTI VASCOLARI E METABOLICI DELLE STATINE IN UNA COORTE DI PAZIENTI AFFETTI DA DIABETE TIPO 2 E DISLIPIDEMIA SECONDARIA.....	26
5.1 Introduzione.....	26
5.2 Materiali e metodi.....	29
5.3 Risultati.....	32
5.4 Discussione.....	35
6. TABELLE E FIGURE.....	38
7. BIBLIOGRAFIA.....	43

1. INTRODUZIONE

L'avvento degli inibitori della 3-idrossi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) reduttasi, o statine, ha rivoluzionato il trattamento dell'ipercolesterolemia (1). Le statine rappresentano attualmente il farmaco più prescritto per la terapia delle dislipidemie in virtù della loro efficacia nel ridurre il colesterolo LDL (LDL-C) e della loro tollerabilità e sicurezza. Numerose evidenze in letteratura, in particolare negli ultimi anni, hanno documentato altri potenziali effetti delle statine, al di là dell'azione ipocolesterolemizzante, che potrebbero contribuire alla riduzione del rischio cardiovascolare. Tra questi effetti "pleiotropici" delle statine sono inclusi il miglioramento della disfunzione endoteliale, l'incremento della biodisponibilità di ossido nitrico, l'azione anti-ossidante e anti-infiammatoria e la stabilizzazione della placca aterosclerotica (2). Altri potenziali effetti su cui ultimamente si sta focalizzando l'attenzione riguardano la capacità di reclutare progenitori delle cellule endoteliali, l'effetto immunosoppressivo e l'inibizione della ipertrofia cardiaca. Alcuni di questi effetti pleiotropici delle statine potrebbero non essere correlati alle proprietà ipocolesterolemizzanti dei farmaci o addirittura essere indipendenti dall'inibizione della HMG-CoA reduttasi ed evidenziarsi a dosi farmacologiche molto basse.

Queste considerazioni assumono un'importanza ancora maggiore nella terapia della dislipidemia secondaria al diabete di tipo 2 (T2D). Numerosi studi di popolazione hanno dimostrato come il trattamento della dislipidemia sia un elemento indispensabile per la riduzione del rischio cardiovascolare nel paziente diabetico (3); in questo ambito la terapia con statine potrebbe contribuire alla riduzione del rischio intervenendo su altri aspetti (ad esempio l'infiammazione o l'insulino-

resistenza) coinvolti nella patogenesi del T2D. Una migliore comprensione dei meccanismi di azione e dei benefici associati alla terapia con statine, in particolare nel paziente diabetico, può quindi essere sicuramente di aiuto per una più efficace applicazione terapeutica.

2. CONSIDERAZIONI GENERALI SULLE STATINE

2.1 Meccanismo di azione e biochimica delle statine

Le statine inibiscono in maniera competitiva l'enzima HMG-CoA reduttasi, coinvolto nella biosintesi epatica del colesterolo (1); la riduzione risultante della concentrazione di colesterolo intraepatocitaria determina l'aumento dell'espressione dei recettori epatici per il LDL-C e della sua clearance dal circolo ematico (4). Le statine possono inoltre inibire la sintesi epatica di apolipoproteina B-100 e ridurre la sintesi e la secrezione di lipoproteine ricche in trigliceridi (5). Sebbene il principale effetto delle statine sia ridurre il LDL-C attraverso un'aumentata clearance recettoriale dal circolo ematico, la ridotta produzione e secrezione epatica di lipoproteine indotta dalle statine potrebbe spiegare perchè esse siano in grado di ridurre il LDL-C anche in pazienti con ipercolesterolemia familiare omozigote che, per definizione, non hanno recettori funzionali per le LDL.

La maggior parte delle statine utilizza la via del citocromo P450 per il proprio metabolismo e biotrasformazione, ad eccezione della pravastatina e della rosuvastatina; queste ultime due inoltre, essendo maggiormente idrofiliche, presentano differenti

caratteristiche di solubilità rispetto ad altre statine (ad esempio la atorvastatina o la simvastatina) che si rivelano al contrario maggiormente lipofile. Queste differenti caratteristiche biochimiche sono state chiamate in causa, come meglio descriveremo, per provare a spiegare alcuni effetti diversi sul piano clinico del trattamento con molecole differenti.

2.2 Effetti su lipidi e lipoproteine plasmatiche

Le statine sono altamente efficaci nel ridurre il LDL-C e modestamente efficaci nell'aumentare il colesterolo HDL (HDL-C). La dose richiesta per ridurre il LDL-C ad un determinato livello plasmatico varia abbondantemente in base alla molecola somministrata; complessivamente, la riduzione massima di LDL-C determinabile dalla terapia con statine varia dal 25 al 60% del valore sierico iniziale, a seconda della molecola utilizzata. Inoltre la curva dose-risposta, a prescindere dal farmaco utilizzato, segue sempre un andamento curvilineo e in tal modo raddoppiare la dose al di sopra della soglia minima efficace comporta una riduzione ulteriore di LDL-C di circa il 6%. Le statine, riducendo la sintesi epatica di apo B-100 e di lipoproteine ricche in trigliceridi (VLDL), sono efficaci anche nella riduzione della trigliceridemia (5); a tal proposito, la capacità di ridurre i trigliceridi plasmatici è direttamente proporzionale al livello iniziale di trigliceridemia e alla potenza della statina. Per tale ragione le statine rappresentano una valida aggiunta ad altri farmaci (ad esempio i fibrati) nella terapia della ipertrigliceridemia moderata in pazienti con iperlipemia familiare combinata, mentre si rivelano inefficaci nel trattamento della malattia da chilomicroni. Le statine non risultano efficaci nel ridurre la concentrazione plasmatica di

lipoprotein(a) (6) o nel modificare le dimensioni e la densità delle lipoproteine LDL (7).

2.3 Reazioni avverse alle statine

In riferimento alla classe farmacologica, le statine sono in genere ben tollerate e non sono conosciute differenze particolari nella sicurezza tra le varie molecole. Le più importanti reazioni avverse sono date dalla tossicità epatica e muscolare. L'incidenza di aumento delle transaminasi tre volte al di sopra del valore soglia è pari a circa 1% per tutte le statine ed è un effetto dose-dipendente (8,9); in questi casi in genere i livelli di transaminasi ritornano nella norma entro tre mesi dalla sospensione del farmaco. Il principale evento avverso determinato dalle statine è la miopatia, definita come dolore o debolezza muscolare associata ad aumento dei livelli di creatinichinasi (CK) di almeno dieci volte la norma; anche la miopatia rappresenta una reazione avversa dose-dipendente con una frequenza in monoterapia di un caso su 1000 pazienti. Il quadro clinico può essere caratterizzato anche da febbre e malessere generalizzato e, nei casi più gravi, si può configurare il quadro della rabdomiolisi con insufficienza renale acuta, in particolare se la terapia non viene prontamente interrotta al primo manifestarsi dei sintomi. Da ricordare che il rischio di miopatia è notevolmente aumentato in caso di associazione con farmaci inibitori del citocromo P450 che inibiscono il catabolismo delle statine e ne aumentano la concentrazione plasmatica, come la ciclosporina, l'eritromicina o il genfibrozil.

3. STATINE E RISCHIO CARDIOVASCOLARE

3.1 Studi di prevenzione secondaria

Il primo studio a dimostrare l'efficacia delle statine nella prevenzione secondaria degli eventi cardiovascolari è stato "The Scandinavian Simvastatin Survival Study" (4S) (8); si evidenziò per la prima volta una riduzione di circa il 30% della mortalità totale nel gruppo di pazienti con pregresso evento cardiovascolare maggiore in terapia con simvastatina. Inoltre, la terapia con simvastatina si dimostrò ridurre il numero di nuovi eventi cardiovascolari e cerebrovascolari indipendentemente dal sesso, dall'età e dalla presenza di altri fattori di rischio quali fumo di sigarette, ipertensione o diabete. Un'analisi successiva dei dati dello studio, pubblicata tre anni più tardi, documentò anche un miglioramento della prognosi in termini di attesa di vita nel sottogruppo di pazienti diabetici trattati con simvastatina (10). Il successivo studio CARE ("The Cholesterol And Recurrent Events"), partendo dalle evidenze del 4S, estese l'analisi a pazienti in prevenzione secondaria con livelli basali inferiori di LDL-C (139 mg/dl) e somministrando pravastatina 40 mg/die (11); pur riducendo globalmente la percentuale di eventi (ma non la mortalità totale), dall'analisi post-hoc si evidenziò come la terapia in effetti non comportava una riduzione significativa nel numero di eventi coronarici in pazienti con LDL-C inferiore a 125 mg/dl. Come già nel 4S, anche nello studio CARE i pazienti diabetici trattati con pravastatina (n=282) mostravano una riduzione di circa il 25% del rischio di nuovi eventi cardiovascolari maggiori confrontati con i diabetici che assumevano il placebo (11). Un'estensione di questo trial clinico pubblicata alcuni anni più tardi, lo studio LIPID (12),

esaminando un campione di circa 9000 soggetti in prevenzione secondaria e includendo anche i pazienti con angina instabile, documentò una riduzione del rischio di morte cardiovascolare del 24% nel gruppo in trattamento con pravastatina. Infine uno studio più recente, il PROVE-IT, condotto su 4162 pazienti ricoverati in ospedale per sindrome coronarica acuta ha dimostrato che la terapia intensiva con atorvastatina 80 mg/die vs terapia standard con pravastatina 40 mg/die, raggiungendo un livello medio di LDL-C pari a 62 mg/dl, riduce del 16% il rischio a due anni di morte e di nuovi eventi cardiovascolari maggiori (13).

3.2 Studi di prevenzione primaria

L'efficacia delle statine nel ridurre il rischio cardiovascolare è ben dimostrata da numerosi trials clinici anche in prevenzione primaria, ossia in pazienti con fattori di rischio ma non andati incontro ancora ad eventi cardiovascolari. Uno dei primi grandi studi clinici ad affrontare il tema dell'uso delle statine in prevenzione primaria è stato l'AFCAPS/TexCaPS (14), il quale dimostrò come la terapia con lovastatina 40 mg/die in pazienti con valori medi iniziali di LDL-C pari a 150 mg/dl e bassi livelli di HDL-C riducesse in maniera significativa (quasi il 40%) il numero di eventi cardiovascolari rispetto al placebo; lo studio confermò come la riduzione del LDL-C fosse un punto cruciale nella prevenzione cardiovascolare ed evidenziò per la prima volta i bassi livelli di HDL-C come ulteriore determinante del rischio. Rilevanti si dimostrarono anche i risultati del braccio "lipid lowering" dello studio ASCOT, in cui 10305 pazienti ipertesi con colesterolemia totale <250 mg/dl furono randomizzati ad atorvastatina 10 mg/die o placebo: lo studio fu interrotto dopo 3 anni

per il notevole miglioramento, soprattutto nel primo anno di follow-up, di tutti gli end-points primari e secondari (15). Di recente sono stati pubblicati anche i risultati del follow-up a dieci anni dello studio WOSCOPS (The West of Scotland Coronary Prevention Study) (16) che hanno documentato come la terapia con pravastatina per cinque anni in pazienti senza precedenti cardiovascolari abbia comportato una riduzione significativa degli eventi per ulteriori dieci anni dal termine dello studio rispetto a coloro i quali avevano assunto il placebo (17). Infine, un'ulteriore evidenza dell'efficacia delle statine in prevenzione primaria è stata recentemente fornita dallo studio JUPITER (18): in questo grande trial clinico condotto su 17802 pazienti apparentemente sani, con valori di proteina reattiva C >2.0 mg/l, la terapia con rosuvastatina 20 mg/die ha ridotto significativamente l'incidenza di eventi cardiovascolari maggiori con una mediana di follow-up pari a 1.9 anni rispetto al placebo.

La terapia con statine si è dimostrata efficace anche nella prevenzione degli eventi cerebrovascolari, principalmente in prevenzione secondaria (19); in ogni caso alcuni trial hanno dimostrato che le statine sono in grado di ridurre la progressione dell'aterosclerosi carotidea, valutata ecograficamente, in pazienti con e senza storia di malattia cerebrovascolare (20). Infine, in altri studi, la pravastatina ha dimostrato di ridurre significativamente lo spessore mio-intimale dell'arteria femorale comune, ma solo in soggetti con pregressa malattia coronarica (21), così come la terapia con simvastatina è stata associata ad un miglioramento del quadro clinico in pazienti con claudicatio intermittens (22).

4. EFFETTI PLEIOTROPICI DELLE STATINE

L'ipotesi di ulteriori effetti farmacologici delle statine nella riduzione del rischio cardiovascolare, al di là dell'azione ipocolesterolemizzante, è emersa sin dalla pubblicazione dei primi grandi trials clinici di prevenzione secondaria e primaria. Infatti, sebbene l'analisi post-hoc dei dati del 4S evidenziava come l'effetto benefico della simvastatina nei singoli individui era correlato all'entità della riduzione del LDL-C, studi successivi (11,12,17) si discostavano da questa conclusione, suggerendo l'ipotesi di una serie di azioni indipendenti dal colesterolo plasmatico, note come effetti "pleiotropici", che probabilmente contribuivano alla riduzione del rischio cardiovascolare. In secondo luogo, il beneficio procurato dalle statine sembrava indipendente dal profilo lipidico basale del paziente. L'evidenza secondo cui l'infiammazione e il sistema immunitario svolgono un ruolo centrale nella patogenesi dell'aterosclerosi, e la dimostrata capacità delle statine di ridurre i livelli plasmatici di alcuni mediatori dell'infiammazione (23,24), hanno ulteriormente rinforzato questa ipotesi. Perdi più le statine sembrano modulare processi infiammatori specificamente legati all'aterosclerosi, stimolando l'espressione e l'attività di numerose molecole coinvolte senza tuttavia alterare il profilo lipidico. Generalmente, per effetti pleiotropici delle statine indichiamo una serie di azioni vascolari che includono effetti sul metabolismo delle lipoproteine plasmatiche ma anche effetti anti-infiammatori e anti-trombotici (25,26). Le statine migliorano la vasodilatazione endotelio-dipendente ed aumentano il numero di progenitori circolanti delle cellule endoteliali, oltre alla riduzione dei livelli di hs-PCR e di altri marcatori dell'infiammazione come il CD40L (Fig.1). La gran parte di

questi effetti sono mediati dall'inibizione della HMG-CoA reduttasi e dalla ridotta sintesi di mevalonato; in tal modo infatti le statine, oltre a ridurre il LDL-C, inibiscono la sintesi di intermedi degli isoprenoidi, a loro volta coinvolti in importanti funzioni biologiche a livello vascolare, come l'attivazione delle proteine RAS, l'"up-regulation" della sintesi endoteliale di ossido nitrico (NO) o la "down-regulation" della NADPH ossidasi.

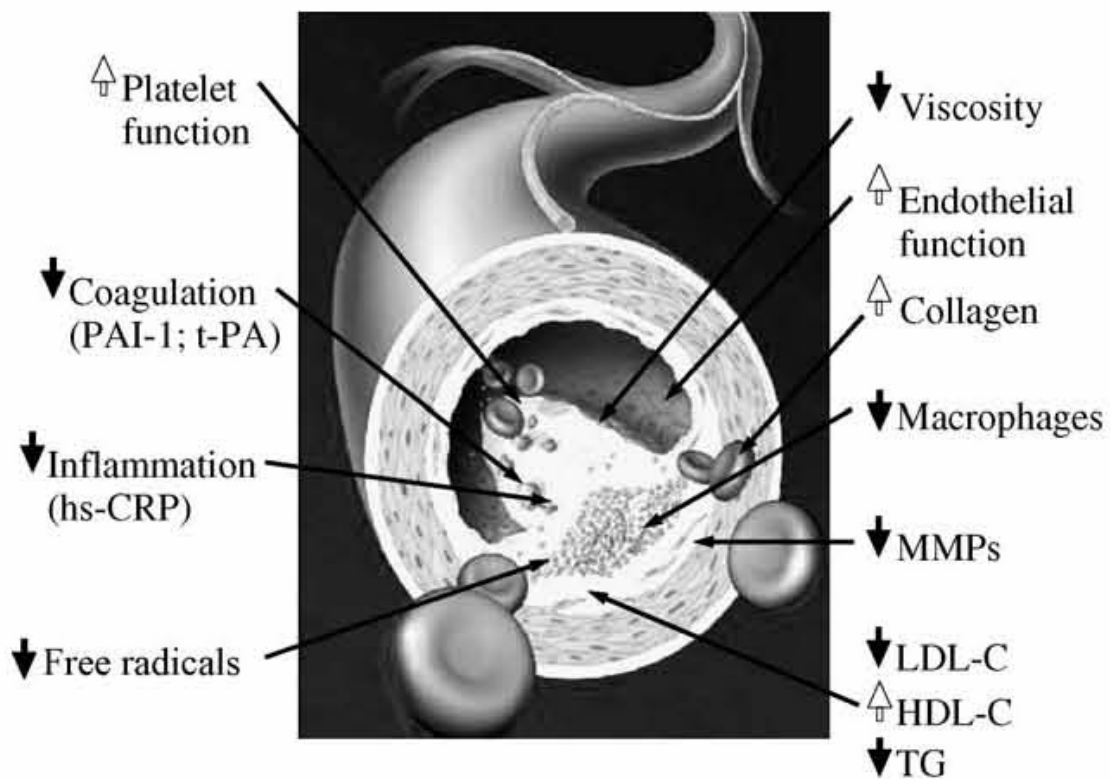


Fig. 1. Effetti vasoprotettivi colesterolo-indipendenti delle statine. Da Endres et al., *Stroke* 2004.

4.1 Evidenze dagli studi *in vitro*

La maggior parte degli studi *in vitro* supportano l'ipotesi di una serie di effetti delle statine, indipendenti dall'azione ipocolesterolemizzante, su diversi tipi cellulari coinvolti nei

meccanismi di aterogenesi, quali cellule endoteliali (ECs), cellule muscolari lisce (SMCs), monociti/macrofagi e linfociti T.

Inflammatory Pathways and Mediators Affected by HMG-CoA Reductase Inhibitors

Process/Pathway	Mediator	Cell type
Adhesion↓↓	↓ Mac-1 ↓ LFA-1 (also via direct binding) ↓ ICAM-1 (also plasma sICAM-1) ↓ VCAM-1 (also plasma sVCAM-1) ↓ E-selectin ↓ L-selectin	MØ and T cells to endothelium; peripheral blood
Migration↓↓	↓ MCP-1 ↓ IL-8 ↓ RANTES	EC, SMC, MØ, T cells
Proliferation↓↓	↓ SMC ↓ EC (via ↑ p21[Waf1/Cip1])	EC, SMC, MØ
Endothelial function↑	↑ eNOS ↓ LDL oxidation ↓ Endothelin-1	EC
Matrix degradation↓↓	↓ Interstitial collagenases MMP-1/-13 ↓ Gelatinases MMP-2/-9 ↓ Stromelysin MMP-3 ↑ TIMP-1	EC, MØ
Apoptosis↑	↑ Caspase-3 ↑ Caspase-9 ↓ prenylation of p21RhoB ↓ Bcl-2	EC, SMC, MØ
Thrombosis↓↓	↓ Tissue factor ↓ Factor VIIa ↓ t-PA ↓ Platelet aggregation ↑ Fibrinogen ↑ PAI-1 ↑ PGI2 ↓ TxA2, TxB2	EC, MØ, platelets; peripheral blood
Inflammatory mediators↓↓	↓ CD40/CD40L, sCD40L ↓ IL-1β ↓ IL-6 ↓ TNF-α ↓ C-reactive protein ↓ Cyclooxygenase 2 ↓ Serum amyloid A ↑ PPAR-γ ↓ TH1 (IFN-γ, IL-12) ↑ TH2 (IL-4, IL-10, TGF-β) ↓ MHC II	EC, MØ; peripheral blood

Arrows indicate enhanced (↑) or diminished (↓) activation/expression of the pathway and/or mediator after statin administration. EC indicates endothelial cell; eNOS, endothelial nitric-oxide synthase; ICAM-1, intercellular adhesion molecule-1; IL-8, interleukin-8; LDL, low-density lipoprotein; LFA-1, leukocyte-function antigen-1; MCP-1, monocyte chemotactic protein-1; MHC II, major histocompatibility complex class II; MMP, matrix metalloproteinase; MØ, macrophage; PAI, plasminogen activator inhibitor-1; PGI2, prostaglandin I2; PPAR-γ, peroxisome proliferator activated receptors; RANTES, regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted; sCD40L, soluble CD40L; SMC, smooth muscle cell; sVCAM-1, soluble vascular adhesion molecule-1; TGF-β, transforming growth factor-beta; TIMP-1, tissue inhibitors of metalloproteinase; TNF-α, tumor necrosis factor-alpha; t-PA, tissue plasminogen activator; TxA2, thromboxane A2; and VCAM-1, vascular adhesion molecule-1.

Le statine possono interferire già nella prima fase del processo aterosclerotico che prevede l'interazione leucociti/endotelio e la

migrazione delle cellule infiammatorie: ad esempio la lovastatina riduce l'espressione dell'integrina dimerica CD11b (Mac1) sui monociti e inibisce l'adesione dei leucociti alle ECs (27), mentre altre statine hanno dimostrato di ridurre l'espressione di VCAM ed E-selectina sulle ECs. Ulteriori studi hanno evidenziato come le statine siano in grado di ridurre l'adesione leucocitaria anche attraverso l'interazione con l'antigene funzionale leucocitario-1 (LFA-1) (28). In seguito all'adesione alla superficie endoteliale, i leucociti migrano all'interno della parete vascolare richiamati da una sottoclasse di citokine note come chemokine (29). Anche questa fase dell'aterogenesi può essere regolata dalle statine, che hanno dimostrato di ridurre l'espressione di alcune chemokine, quali MCP-1 e IL-8, e di regolare la migrazione di SMCs, linfociti T ed ECs oltre a ridurre l'accumulo di macrofagi nell'ateroma (30-32). Oltre all'infiltrazione infiammatoria, la proliferazione e migrazione nella parete vascolare delle ECs (probabilmente contribuendo alla neoangiogenesi) e delle SMCs (promuovendo la formazione del "cap" fibroso) avvengono durante la formazione e progressione della lesione aterosclerotica; attualmente, tuttavia, il coinvolgimento delle statine nel modulare il processo di neovascolarizzazione dell'ateroma appare piuttosto controverso. Alcuni studi, ad esempio, hanno riportato che la simvastatina può promuovere la neoangiogenesi (33), mentre altri hanno evidenziato un'inibizione di questo processo da parte della cerivastatina (34). Queste differenze possono tuttavia essere determinate dalle differenti concentrazioni di farmaco utilizzate nei vari studi piuttosto che dalla molecola utilizzata; infatti, alle normali dosi terapeutiche l'atorvastatina e la cerivastatina promuovono la migrazione delle ECs e la neoangiogenesi, mentre a concentrazioni *in vitro* superiori (>100

nmoli/L) il processo viene inibito (35). Le statine hanno inoltre dimostrato di ridurre la proliferazione delle SMCs sia *in vitro* che *ex vivo* (36,37), anche se questi dati vanno interpretati con cautela in considerazione dei potenziali effetti tossici proapoptotici che gli inibitori della HMG-CoA reduttasi hanno dimostrato su queste cellule. A questo proposito, alcuni studi iniziali riportavano l'induzione dell'apoptosi da parte delle statine su alcune linee cellulari tumorali e anche su cellule coinvolte nell'aterogenesi, quali SMCs, ECs e macrofagi (38,39); questi studi utilizzavano tuttavia concentrazioni molto alte di farmaco (nel range millimolare), al punto da ipotizzare un effetto tossico diretto, piuttosto che un'azione proapoptotica, come possibile spiegazione per l'aumentata morte cellulare. Altri studi più recenti hanno dimostrato come le statine, anche a basse concentrazioni (<10 nM), inducano l'espressione degli enzimi proapoptotici caspasi-3 e -9 e inoltre inibiscano l'espressione di Bcl-2 (40,41). In generale, il possibile coinvolgimento delle statine nella morte cellulare assume grande rilevanza alla luce del molteplice ruolo di questo processo nell'aterogenesi: può infatti contribuire alla formazione del core lipidico attraverso la morte delle cellule "schiumose" e influenzare il contenuto di SMCs nel "cap" fibroso (42-44). Infine, l'induzione dell'apoptosi sembrerebbe ristretta alle sole statine lipofile, mentre le statine idrofile, quali pravastatina e rosuvastatina, sembrano mancare di questa azione *in vitro* (38).

La migrazione dei monociti/macrofagi, come delle cellule endoteliali e della parete vascolare, dipende anche dall'attività di enzimi degradanti la matrice, noti come metalloproteinasi (MMPs) (45,46). Questa famiglia di proteasi può partecipare anche all'indebolimento del "cap" fibroso, rendendo la placca suscettibile alla rottura (47). Questi enzimi si localizzano più frequentemente a livello della

cosiddetta “spalla” della placca, ossia una sede frequente di rottura. Una serie di citokine proinfiammatorie, quali IL-1, CD40L, TNF-alfa, regolano l’espressione e l’attività delle MMPs. In accordo con gli studi che documentano come le statine siano in grado di ridurre la migrazione di cellule infiammatorie nell’ateroma e renderlo suscettibile alla rottura, esse riducono anche l’espressione di alcune MMPs coinvolte in questi processi (37,48); in particolare l’inibizione della HMG-CoA reduttasi riduce l’espressione delle collagenasi interstiziali (MMP-1, MMP-13), delle gelatinasi (MMP-2, MMP-9) e della stromalisina (MMP-3) nella gran parte delle cellule coinvolte nell’aterogenesi (47-50).

La rottura della placca aterosclerotica espone il contenuto lipidico procoagulante al flusso sanguigno, scatenando così il processo trombotico. Le statine possono interferire a vario livello su questo processo, modulando l’attività procoagulante della lesione e la funzione piastrinica. La simvastatina e la fluvastatina riducono l’espressione dei maggiori fattori tissutali procoagulanti nei macrofagi e nelle ECs in vitro e negli animali da esperimento in vivo (51,52). Inoltre le statine promuovono l’attività fibrinolitica riducendo l’espressione del PAI-1 e stimolando l’attivatore tissutale del plasminogeno nelle cellule endoteliali e nelle SMCs (53,54). In ultimo, le statine modulano anche la funzione piastrinica: sebbene gran parte dei meccanismi sottostanti siano ancora da chiarire, le statine inibiscono l’espressione del fibrinogeno e la generazione di trombina *in vitro* e riducono l’aggregazione delle piastrine e la loro deposizione nei vasi danneggiati (55,56); contribuiscono inoltre a ridurre l’espressione di COX-2 e di trombossano A2 e ad aumentare la sintesi di prostaciclina, risultando infine in una ulteriore attivazione dell’aggregazione piastrinica (57,58).

4.2 Effetti anti-infiammatori

L'importanza dell'infiammazione nella patogenesi dell'aterosclerosi è ormai lungamente consolidata. Elevati livelli circolanti di mediatori dell'infiammazione come proteina reattiva C (PCR), interleukina-6 (IL-6), "intercellular adhesion molecule-1" (ICAM-1), "vascular cell adhesion molecule-1" (VCAM-1) e "serum amyloid A" (SAA) sono stati associati ad aumento del rischio di insorgenza e ricorrenza di eventi cardiovascolari maggiori (59,60). In particolar modo, i livelli plasmatici di PCR sembrano essere i predittori più efficaci di eventi futuri. Numerose evidenze in letteratura documentano come la terapia con statine possa effettivamente attenuare l'effetto dell'infiammazione sistemica sul rischio cardiovascolare: tra i 708 pazienti in prevenzione secondaria dello studio CARE (59), i soggetti con elevati livelli di PCR e SAA (>90° percentile) avevano un rischio maggiore e beneficiavano in maggior misura della terapia con pravastatina 40 mg/die rispetto a coloro con indici infiammatori più bassi; il rischio relativo di ricorrenza di un evento coronarico era ridotto del 54% e del 25% nei due gruppi, rispetto al placebo. E' da sottolineare come questi sottogruppi avessero un identico profilo lipidico alla valutazione di base e come la riduzione dei livelli di PCR nel gruppo trattato con pravastatina non fosse correlata con la riduzione di LDL-C (59). Quest'ultima evidenza è stata confermata anche da trials successivi (60-62), uno dei quali confrontava gli effetti della pravastatina, simvastatina e atorvastatina sui livelli di PCR in pazienti con dislipidemia familiare combinata in prevenzione primaria (62): tutti e tre i farmaci, a dosi equivalenti per quanto riguarda l'effetto ipocolesterolemizzante, riducevano

significativamente e in maniera analoga le concentrazioni di PCR, indipendentemente dalla riduzione di LDL-C. L'effetto sui livelli di PCR sembra inoltre dose-dipendente: nello studio ASAP ("Atorvastatin versus Simvastatin on Atherosclerosis Progression") la terapia aggressiva con atorvastatina 80 mg/die riduceva in modo più efficace la PCR rispetto ad uno schema più convenzionale (simvastatina 40 mg/die) (63); inoltre, all'analisi univariata, la riduzione dei livelli di PCR era correlata alla riduzione dello spessore mio-intimale carotideo. Infine, il recente e già citato studio JUPITER (18) ha evidenziato come la riduzione dei livelli di PCR al di sotto di 2 mg/l ottenuta con rosuvastatina 20 mg/die in pazienti apparentemente sani e con LDL-C <130 mg/dl abbia ridotto in maniera significativa l'incidenza a due anni di eventi coronarici acuti. Nella patogenesi e nella progressione della placca aterosclerotica, le molecole di adesione e le citokine ad azione chemiotattica svolgono anch'esse un ruolo importante (64): mediano l'adesione e la migrazione dei leucociti attraverso l'endotelio dando inizio al processo aterosclerotico. E' quindi possibile misurare nel plasma la forma solubile di queste molecole o studiare in vitro la loro interazione con le integrine presenti sulla superficie delle cellule infiammatorie. Le statine sembrano ridurre l'adesione di queste molecole e inibire l'attività delle integrine, anche se i risultati in questo campo appaiono ancora piuttosto inconsistenti. In un primo studio non controllato, la terapia ad alte dosi con atorvastatina e simvastatina è stata associata a riduzione della quota solubile di E-selectina ma non delle forme solubili di ICAM e VCAM (65). Uno studio successivo ha dimostrato come entrambe le suddette statine riducano in modo significativo la forma solubile di E-selectina, P-selectina e ICAM-1, mentre la sola simvastatina determini l'aumento

di VCAM-1 (66). Un ulteriore studio più recente ha invece dimostrato un effetto più moderato di entrambe le statine sui livelli circolanti di ICAM e VCAM (67). In ogni caso, in tutti gli studi sopradetti, gli effetti anti-infiammatori delle statine utilizzate si sono rivelati indipendenti dall'azione ipocolesterolemizzante; un ulteriore elemento di prova a tal proposito è stato fornito da un altro studio *in vitro* che ha dimostrato come una statina modificata, ossia priva dell'azione inibitoria sulla HMG-CoA reduttasi, è in grado di esercitare ancora una potente e selettiva azione anti-infiammatoria (68).

Gli effetti anti-infiammatori delle statine sono coinvolti anche in alcuni meccanismi di stabilizzazione della placca aterosclerotica, come dimostrato da studi *in vivo* su modelli animali, ad esempio riducendo il contenuto in "foam cells" o semplicemente riducendo il core lipidico (69). Le statine inoltre riducono l'uptake di LDL ossidate tramite il CD36, lo "scavenger receptor A" e lo specifico recettore LOX-1 (70,71), probabilmente contribuendo alla ridotta formazione di "foam cells". Elevati livelli plasmatici di alcuni mediatori della cascata infiammatoria sono stati inoltre associati a rottura della placca: tra questi la P-selectina, l'IL-6, il TNF-alfa, la forma solubile di ICAM-1 e la PCR. L'indebolimento del "cap" fibroso, come già detto, è associato ad un incremento della produzione di MMPs da parte dei macrofagi. In uno studio, la pravastatina ha dimostrato di potere modificare il contenuto della placca aterosclerotica carotidea favorendone la stabilizzazione (72): pazienti con stenosi carotidea ricevevano pravastatina 40 mg/die per tre mesi prima di sottoporsi ad endoarterectomia e, successivamente, le placche rimosse mostravano un contenuto significativamente ridotto in lipidi, LDL ossidate, macrofagi e linfociti T rispetto al gruppo placebo di

controllo; inoltre risultavano minori l'immunoreattività alla MMP-2 e il grado di apoptosi (72).

4.3 Effetti sulla disfunzione endoteliale

Il danno endoteliale rappresenta l'incipit del processo aterosclerotico. La disfunzione endoteliale, una manifestazione precoce di questo coinvolgimento, è associata ad una vasocostrizione paradossa in risposta all'acetilcolina dovuta ad alterata sintesi, rilascio e attività dell'ossido nitrico (NO) endoteliale. L'anormale risposta vasomotoria endotelio-dipendente è predittiva della progressione verso l'aterosclerosi ed è associata ad un maggior rischio di eventi coronarici (73).

L'ipotesi secondo cui la terapia con statine può avere un effetto diretto positivo sulla disfunzione endoteliale (oltre che sull'infiammazione o sulla trombogenesi), non mediato quindi dalla riduzione del LDL-C, è emersa già da alcune osservazioni sui risultati degli studi 4S e CARE (3,11), secondo cui la riduzione percentuale del LDL-C ottenuta con simvastatina e pravastatina era diversa dal rischio di ricorrenza di eventi cardiovascolari maggiori. La terapia con statine ha di recente dimostrato di migliorare la disfunzione endoteliale e incrementare la perfusione miocardica, a prescindere dall'effetto ipocolesterolemizzante, e suggerendo in tal modo un possibile effetto di classe. In pazienti ipercolesterolemici con difetto di perfusione miocardica, ad esempio, il trattamento con fluvastatina (da 40 a 80 mg/die) per 12 settimane ha incrementato in maniera significativa la perfusione nei segmenti ischemici interessati (74). In soggetti con ipercolesterolemia moderata il trattamento con simvastatina 20 mg/die, a confronto con il placebo, ha aumentato in

maniera significativa la risposta vasodilatatoria alla acetilcolina, valutata tramite "forearm blood flow" a 4 settimane dall'inizio della terapia (75); dopo altri tre mesi di trattamento il miglioramento nel gruppo simvastatina si è rilevato ulteriormente maggiore. Un recente studio ha confrontato la terapia con atorvastatina 10 mg/die in associazione a dieta ipolipidica vs la sola dieta ipolipidica in donne in menopausa con ipercolesterolemia, dimostrando un significativo incremento della reattività arteriosa brachiale nel gruppo trattato con atorvastatina dopo due, quattro e otto settimane di trattamento (76); inoltre questo effetto sembrava indipendente dall'azione ipocolesterolemizzante, come dimostrato dalla debole correlazione negativa fra riduzione del LDL-C e incremento della vasoreattività arteriosa (76). Ad ulteriore conferma di ciò, un altro piccolo studio condotto su soggetti giovani e con colesterolemia normale ha evidenziato un miglioramento della funzione endoteliale entro 24 ore dalla somministrazione di atorvastatina 80 mg e un rapido peggioramento dopo la sospensione del farmaco somministrato per trenta giorni (77); questo effetto fu evidenziato prima della riduzione dei livelli di PCR e LDL-C, a loro volta rilevati dopo due giorni di trattamento con la statina. Queste evidenze confermano quindi che le statine sono in grado di migliorare la disfunzione endoteliale indipendentemente dall'effetto sui lipidi plasmatici e anche su pazienti in cui il processo aterosclerotico non si è ancora determinato. La terapia a lungo termine con statine ha dimostrato di migliorare la funzione endoteliale anche in pazienti con aterosclerosi conclamata. In un primo e autorevole studio del 1995 è stato confrontato l'effetto della sola dieta vs terapia ipolipemizzante (lovastatina e colestiramina) vs terapia ipolipemizzante e anti-ossidante (lovastatina e probucolo) sulla vasocostrizione acetilcolina

indotta delle arterie coronariche epicardiche dopo un anno di trattamento (78): il miglioramento più evidente nella risposta vasocostrittoria fu evidenziato nel gruppo in terapia ipolipemizzante e anti-ossidante ($p=0.01$) (78).

L'effetto delle statine sulla disfunzione endoteliale in pazienti diabetici è ancora oggetto di studio. Alcuni studi con simvastatina e atorvastatina non hanno evidenziato alcun impatto sulla vasodilatazione endotelio-dipendente in pazienti con diabete tipo 2 (79,80); un altro studio altrettanto recente ha mostrato invece un miglioramento della funzione endoteliale in pazienti diabetici di tipo 2 trattati con atorvastatina (81), evidenza riportata anche da un altro studio su giovani pazienti con diabete tipo 1 e normocolesterolemici (82). In ogni caso, i risultati contrastanti di questi studi possono essere imputati a differenze nella statina utilizzata, al suo dosaggio, alla durata del trattamento o alla selezione dei pazienti. Altri studi hanno invece mostrato come il miglioramento della disfunzione endoteliale indotto dalla terapia con statine possa in parte essere dovuto alla riduzione del LDL-C. In particolare alti livelli di LDL-C sono in grado di determinare la "downregulation" della ossido nitrico sintetasi endoteliale (eNOS), ossia l'enzima che catalizza la formazione di NO dalla L-arginina, verosimilmente per un aumento dei livelli di caveolina-1, il maggior inibitore dell'attività di eNOS (83). Le statine sono inoltre in grado di stimolare direttamente l'attività costitutiva di eNOS, quindi incrementando la biodisponibilità di NO (84). In merito a questa azione sono stati proposti vari meccanismi, inclusi la riduzione delle caveoline, l'incremento della proteina Hsp90 che opera come adiuvante nell'attivazione a lungo termine di eNOS, la stabilizzazione dell'RNA messaggero di eNOS e la ridotta produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) che inattivano

l'NO. Le statine possono inoltre interferire con l'attivazione di Rho GTPasi da parte del GGPP, prevenendo in tal modo la sua traslocazione sulla membrana cellulare, meccanismo attraverso cui viene regolata negativamente l'attività di eNOS (85). Infine, un'altra via di regolazione dell'attività di eNOS è rappresentata dal pathway PI3K/Akt: le statine hanno dimostrato di potere attivare la proteina kinasi B nelle cellule endoteliali, risultando in una maggiore fosforilazione di eNOS e quindi in una maggiore sintesi di NO endoteliale (86).

4.4 Effetti anti-ossidanti

L'efficacia della terapia anti-ossidante nella prevenzione della cardiopatia ischemica è attualmente oggetto di controversia. Sebbene alcuni grandi trials non abbiano evidenziato alcun effetto benefico in prevenzione secondaria (87), la teoria secondo cui la produzione di sostanze ad azione ossidante (ad esempio le specie reattive dell'ossigeno) abbia un ruolo non secondario nella patogenesi dell'aterosclerosi è ancora molto considerata. In particolare si sta ponendo sempre più attenzione sugli effetti anti-ossidanti acuti e iniziali della terapia e sulle possibili relazioni con l'infiammazione nell'aterogenesi. Il ruolo delle LDL (oxLDL) ossidate appare centrale nella formazione dell'ateroma, così come l'azione anti-ossidante delle statine appare di grande interesse. Oltre ad attenuare l'effetto inibitorio delle oxLDL su eNOS, le statine hanno dimostrato anche un'azione anti-ossidante diretta sulle LDL *in vitro* e *ex vivo* (88,89). A tal proposito, i metaboliti idrossilati dell'atorvastatina inibiscono l'ossidazione di LDL, VLDL e delle lipoproteine ad alta densità (90), e "catturano" i radicali liberi

dell'ossigeno. Altri studi hanno riportato come le statine inibiscano la capacità dei macrofagi di ossidare le lipoproteine e riducano l'espressione di CD36 sugli stessi macrofagi, ossia uno specifico recettore per le oxLDL (91,92).

Le oxLDL possiedono inoltre una carica negativa, probabilmente per un processo di glicosilazione o per abnorme contenuto di acido sialico, che le rende potenzialmente citotossiche. A tal proposito, in pazienti con ipercolesterolemia familiare il trattamento con simvastatina 40 mg/die ha ridotto la quantità di LDL elettronegative del 29% dopo 3 mesi e del 21% dopo sei mesi, suggerendo un effetto precoce della terapia su questo parametro (93).

4.5 Effetti sul sistema immunitario

Il sistema immunitario ha un ruolo centrale nell'aterogenesi. Gli effetti modulatori delle statine sul sistema immunitario sono studiati da tempo, ipotizzati per la prima volta in uno studio in cui si osservava che il trattamento con pravastatina, in aggiunta alla terapia immunosoppressiva convenzionale dopo trapianto cardiaco, si associava ad un minore rischio di rigetto e aumento della sopravvivenza a 12 mesi rispetto al gruppo di controllo (94). Questa evidenza potrebbe essere spiegata dall'effetto di downregulation delle statine sui linfociti T helper (Th1) (95). Più recentemente un altro studio dimostrava che l'atorvastatina e la simvastatina riducevano l'espressione di molecole di classe II del complesso maggiore di istocompatibilità (MHCII) in cellule "non specializzate" nella presentazione dell'antigene, quali cellule endoteliali e macrofagi (96). Il meccanismo di azione proposto prevedeva la soppressione dell'espressione genica di un fattore di trascrizione

nucleare (CIITA) a sua volta coinvolto nell'espressione di MHCII. Le statine sembrano avere altri effetti immunomodulatori oltre a quanto descritto: inducono la downregulation dell'antigene funzionale dei leucociti (LFA-1), inibiscono l'adesione endoteliale dei leucociti e la loro migrazione, inibiscono l'attività delle cellule "nk" e il rilascio di una serie di citokine anch'esse coinvolte nei meccanismi di regolazione del sistema immunitario (97), quali TNF-alfa, IL-1 o IL-6.

4.6 Effetti aggiuntivi

Tra gli effetti pleiotropici delle statine, oltre alle conseguenze sull'infiammazione, sull'immunità e sulla funzione endoteliale, indichiamo una serie di altre azioni farmacologiche, più o meno legate all'inibizione della HMG-CoA reduttasi e all'azione ipocolesterolemizzante, che possono interferire con la patogenesi dell'aterosclerosi e contribuire a modificare il rischio cardiovascolare. Ad esempio le statine hanno dimostrato *in vitro* di potere stimolare il reclutamento dei progenitori delle cellule endoteliali (EPCs), le quali svolgono un ruolo importante nei meccanismi di riparazione del danno ischemico (98), e di stimolare la loro mobilitazione verso le aree ischemiche (99). A tal proposito, in pazienti con documentata malattia coronarica stabile, il trattamento con atorvastatina 40 mg/die per quattro settimane è stato associato ad un incremento di una volta e mezzo del numero di EPCs circolanti dopo un mese, e di tre volte al termine del periodo di trattamento (99). In un altro studio l'atorvastatina ha dimostrato di stimolare la differenziazione di un gruppo di precursori cellulari in EPCs e di promuovere la loro migrazione in risposta a fattori di crescita endoteliali (100). Il risvolto pratico di queste osservazioni può sembrare remoto al momento, ma

è comunque promettente in considerazione di alcuni recenti studi su modelli animali di infarto miocardico, in cui i ricercatori hanno evidenziato come le ECPs adeguatamente stimulate e mobilitate da fattori di crescita staminali e granulocitari siano state in grado di riparare parzialmente il tessuto necrotico, riducendo la mortalità e migliorando del 68% la funzione cardiaca (100).

La terapia con statine è stata oggetto di studio anche in pazienti con ipertrofia ventricolare sinistra, a sua volta un fattore di rischio per la cardiopatia ischemica e per lo scompenso cardiaco congestizio. Ad esempio uno studio *in vitro* ha dimostrato come la simvastatina riduca l'ipertrofia indotta dall'angiotensina II in colture di cardiomiociti di ratto; evidenza confermata *in vivo* su modelli animali di cardiopatia ipertrofica (indotta dall'ipertensione arteriosa o dalla coartazione aortica) utilizzando sempre la simvastatina (2 mg/Kg/die per quattro settimane) (101). Tuttavia il recente studio CORONA (102), condotto su 5011 pazienti con più di 60 anni, in classe NYHA III o IV, in terapia con rosuvastatina 10 mg/die, non ha evidenziato significative differenze nella mortalità totale e cardiovascolare tra il braccio di trattamento e quello di controllo, pur avendo ridotto la percentuale di ospedalizzazione. Non risulta quindi ancora chiaro se le statine possano davvero esercitare un effetto benefico anche sulla funzione cardiaca in pazienti con scompenso cronico e, più in generale, se possano provvedere ad una protezione più ampia dal danno d'organo, che vada oltre l'interessamento della sola parete vascolare.

5.EFFETTI VASCOLARI E METABOLICI DELLE STATINE IN UNA COORTE DI PAZIENTI AFFETTI DA DIABETE TIPO 2 E DISLIPIDEMIA SECONDARIA.

5.1 Introduzione

Numerosi studi epidemiologici hanno dimostrato come l'incidenza di malattie cardiovascolari nei pazienti diabetici sia aumentata di circa due-tre volte rispetto alla popolazione generale (8). Uno dei principali fattori che contribuisce all'aumento del rischio cardiovascolare nei pazienti affetti da diabete di tipo 2 (T2D) è l'alterazione quantitativa e qualitativa delle lipoproteine plasmatiche (103,104); infatti, frequentemente in questi pazienti si ritrovano elevati livelli plasmatici di colesterolo LDL (LDL-C), HDL (HDL-C) e trigliceridi, configurando il quadro della caratteristica dislipidemia diabetica.

La terapia con statine rappresenta un punto fermo nella prevenzione degli eventi cardiovascolari acuti. Già a partire dalla metà degli anni '90 gli studi 4S (8), CARE (11) e LIPID (12) hanno evidenziato chiaramente il ruolo delle statine nella prevenzione secondaria degli eventi cardiovascolari, risultati poi confermati anche da altri trials in prevenzione primaria come lo studio ASCOT (15) o il più recente JUPITER (18). Nel paziente diabetico l'uso delle statine per la riduzione del rischio cardiovascolare è sostenuto da molte evidenze: ad esempio nell' "Heart Protection Study" (HPS) la riduzione del LDL-C del 41% in 2912 pazienti con T2D senza precedenti cardiovascolari è stata associata a riduzione del 33% del rischio relativo di eventi cardiovascolari maggiori (105); in precedenza l'analisi di un sottogruppo del 4S aveva dimostrato che la terapia con

simvastatina migliorava la prognosi di pazienti diabetici con malattia coronarica (106). Più recentemente, una metanalisi basata su 14 studi prospettici e comprendente 18686 pazienti con T2D dimostrava una riduzione del rischio di eventi coronarici del 23% dopo una media di cinque anni di terapia con statine (107). Inoltre, queste evidenze hanno contribuito a ridurre progressivamente il target di LDL-C per i pazienti ad alto rischio (fra cui anche i diabetici), sino all'attuale valore soglia di 100 mg/dl suggerito congiuntamente dall' "American Heart Association" e dall' "American Diabetes Association" (108).

Tuttavia, molti pazienti diabetici vanno incontro ugualmente ad eventi cardiovascolari acuti, iniziali o ricorrenti, nonostante l'adeguata riduzione del LDL-C indotta dalla terapia con statine (109); a tal proposito i risultati dello studio TNT dimostrano come la riduzione del LDL-C ad un valore medio di 77 mg/dl con atorvastatina 80 mg/die non ha evitato che il 50-60% dei pazienti diabetici andassero incontro ad ulteriori eventi nei cinque anni successivi (110). Addirittura, una sub-analisi dello studio PROVE-IT riportava un peggioramento del controllo glicemico con atorvastatina 80 mg/die (111), mentre i risultati del già citato studio JUPITER riportavano un maggior rischio di insorgenza a due anni di nuovi casi di diabete nel braccio di trattamento con rosuvastatina 20 mg/die (18); questa evidenza, insieme ad un peggioramento del compenso glicometabolico, era già stata riportata in passato da alcuni piccoli studi condotti su pazienti diabetici o con sindrome metabolica utilizzando la atorvastatina o la simvastatina (112,113). E' possibile tuttavia che un potenziale effetto sul metabolismo glicidico sia prerogativa soltanto di alcune statine (ad esempio in base alla loro lipofilia o idrofilia) e non di altre; a tal proposito lo studio WOSCOPS

ha dimostrato come la terapia con pravastatina riduca del 30% il rischio di insorgenza di nuovi casi di diabete (114).

Inoltre, a prescindere dalla molecola, le statine hanno dimostrato numerosi “effetti pleiotropici”, oltre alla riduzione del LDL-C, quali effetti anti-infiammatori e immunomodulatori, anti-trombotici e di modulazione della funzione endoteliale (2). A tal proposito appaiono piuttosto controversi gli effetti delle statine sulla sensibilità insulinica, la cui alterazione (insulino-resistenza) rappresenta uno degli aspetti fisiopatologici centrali del T2D, soprattutto quando associato al sovrappeso, e di collegamento con le complicanze macrovascolari. In uno studio la terapia con simvastatina e atorvastatina ha migliorato la sensibilità insulinica in un gruppo di pazienti diabetici (115); altri studi non hanno riportato alcun effetto della simvastatina o addirittura un peggioramento della sensibilità insulinica in pazienti con sindrome metabolica o T2D (116,117). Tuttavia nessuno di questi studi ha mai valutato la sensibilità insulinica mediante la tecnica “golden standard” del clamp euglicemico-iperinsulinemico (118) e per un periodo di intervento superiore a due mesi. Inoltre tutti gli studi riportati hanno indagato i potenziali effetti sul metabolismo glicidico di statine liposolubili quali simvastatina e atorvastatina, mentre non vi sono dati riguardanti l’effetto della rosuvastatina su questi parametri in pazienti con T2D.

In ragione di queste premesse obiettivo del nostro studio è stato valutare e confrontare in un gruppo di pazienti affetti da T2D le eventuali differenze della terapia con statine a diversa solubilità (simvastatina e rosuvastatina) su alcuni parametri metabolici relativi al T2D, sulla reattività vascolare arteriosa e su alcuni indici di infiammazione sistemica associati ad aumento del rischio cardiovascolare.

5.2 Materiali e metodi

Per valutare gli effetti metabolici e vascolari della terapia con due differenti statine su un gruppo di pazienti affetti da T2D, abbiamo disegnato uno studio longitudinale di intervento, randomizzato, in cieco semplice, parallelo. Fra i pazienti normalmente afferenti al “Centro per l’Aterosclerosi” del “Policlinico Tor Vergata”, sono stati arruolati 29 soggetti affetti da T2D, tutti di sesso maschile, in terapia ipoglicemizzante orale con metformina, in buon compenso glicometabolico ($HbA1c \leq 7.0\%$), non in terapia con statine da almeno sei mesi e con LDL-C >130 mg/dl. I probandi non presentavano patologie acute e/o croniche concomitanti o assumevano farmaci in grado di interferire sul compenso glicometabolico, sullo status infiammatorio o sulla funzione endoteliale. I pazienti avevano tutti una diagnosi di T2D effettuata tra i 35 e i 55 anni e non riportavano importanti variazioni di peso o di abitudini di vita negli ultimi sei mesi. Il disegno dello studio prevedeva una valutazione di base (T0), la randomizzazione al braccio di trattamento con rosuvastatina 20 mg/die (gruppo “R”, n=14) o simvastatina 20 mg/die (gruppo “S”, n=15) e due successive valutazioni dopo un mese (T1) e dopo sei mesi (T2). Fra il T0 e il T2 non vi è stata alcuna modificazione della terapia ipoglicemizzante orale o delle terapie concomitanti in corso. In ognuna delle valutazioni (T0, T1, T2) ogni paziente veniva sottoposto al seguente protocollo di studio:

- *Determinazioni cliniche-antropometriche* (peso, altezza, BMI, misurazione della circonferenza vita, ECG, pressione arteriosa in posizione seduta).
- *Determinazioni biochimiche* (glicemia, insulina, HbA1c, colesterolo totale, LDL-C, HDL-C, trigliceridi, VES, PCR ultrasensibile, fibrinogeno, adiponectina, leptina, TNF-alfa).
- *Determinazione della sensibilità insulinica* (Clamp euglicemico-iperinsulinemico: infusione costante di insulina alla velocità di $1 \text{ mU} \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ e infusione variabile di glucosio atta a mantenere l'euglicemia; l'infusione di insulina consente di raggiungere elevate concentrazioni plasmatiche dell'ormone - ca. 100 microU/ml - in grado di sopprimere completamente la produzione epatica di glucosio; in tali condizioni l'unica fonte di glucosio è rappresentata dall'infusione esogena che viene regolata, sulla base di frequenti determinazioni glicemiche, in modo da mantenere costante la glicemia) (118).
- *Studio della funzione endoteliale* ("Brachial artery reactivity test" – BART: i soggetti sono inviati a sistemarsi distesi sul letto e sono lasciati a riposo per 10 minuti. Quindi, l'arteria brachiale sinistra viene visualizzata da 2 fino a 15 cm prossimalmente alla fossa ante-cubitale, utilizzando un ecografo ad alta risoluzione (ATL HDI 3000) con una sonda lineare di 7.5-MHz. Dopo aver registrato le immagini e il flusso basali, un manicotto a pressione viene posizionato sulla porzione più alta del braccio e quindi gonfiato fino a 50 mm Hg al di sopra della pressione sistolica per 5 minuti. Il flusso sanguigno viene registrato per 15 secondi dopo il rilascio del manicotto, e quindi l'immagini dell'arteria viene acquisita tra i 60 e i 90 secondi. La dilatazione endotelio dipendente flusso mediata (FMD) viene calcolata come un

incremento percentuale del diametro arterioso. Dopo 15 minuti di riposo, vengono acquisite nuovamente le immagini e il flusso arterioso, quindi vengono somministrati 0.4 mg di nitroglicerina (NTG) spray per via sublinguale al fine di valutare la dilatazione arteriosa endotelio-indipendente. Il flusso sanguigno e le immagini del diametro arterioso vengono registrati tra il terzo e il quarto minuto dopo la somministrazione del NTG. La dilatazione NTG mediata viene calcolata come incremento in percentuale del diametro arterioso. Sia per la dilatazione endotelio mediata che per quella NTG mediata, il diametro arterioso viene misurato dall'interfaccia lume-endotelio anteriore a quella posteriore alla fine della fase diastolica, sulla onda R dell'ECG. Le immagini vengono quindi registrate e analizzate da un investigatore non coinvolto nello studio e che non conosce i dati clinici dei soggetti dello studio (120).

- *Determinazione della composizione corporea* (DEXA-Dual energy X-ray absorptiometry).

L'analisi statistica è stata eseguita mediante software SPSS 14.0. Nelle statistiche descrittive i dati sono stati espressi come $media \pm DS$. Per confrontare le variabili quantitative prima e dopo il trattamento è stata utilizzata l'analisi della varianza (ANOVA) per misure ripetute e gli eventuali confronti multipli *post-hoc* sono stati eseguiti attraverso il test di Bonferroni. Il confronto tra variabili quantitative tra i due diversi bracci di trattamento è stato eseguito mediante il test-*t* per dati non appaiati. L'analisi multivariata è stata eseguita attraverso un modello di regressione logistica "stepwise", basata sul metodo dei minimi quadrati, assumendo come variabile dipendente la variazione percentuale del FMD tra il T2 e il T0 (Delta

FMD%) e come stimatori l'età, il braccio di trattamento, il LDL-C al T0 e la variazione percentuale di LDL-C tra il T2 e il T0 (Delta LDL-C%). Per tutte queste valutazioni un valore $p < 0.05$ è stato considerato statisticamente significativo.

5.3 Risultati

In Tabella 1 sono riportati i parametri antropometrici, metabolici e vascolari rilevati alla valutazione di base (T0), dopo un mese (T1) e dopo sei mesi (T2) dall'inizio della terapia, senza distinzione fra i due bracci di trattamento. L'intero campione era costituito da 29 pazienti, tutti di sesso maschile, con età media pari a 56 ± 8 anni; nessuno di essi ha modificato la terapia ipoglicemizzante orale dopo la randomizzazione, nè assunto nuovi farmaci per patologie concomitanti. Alla valutazione di base i pazienti risultavano mediamente in sovrappeso (BMI 27 ± 3), con valori di circonferenza vita ai limiti alti della norma per la popolazione maschile in base ai criteri NCEP/ATP III (119). Nessuno dei parametri antropometrici inseriti nella valutazione (peso, BMI, circonferenza vita, FAT%) è andato incontro a variazioni nel periodo di trattamento. Nessun paziente ha riferito modificazioni dello stile di vita o delle abitudini alimentari durante lo studio. In tutti i pazienti, a prescindere dal braccio assegnato, la terapia con statine ha ridotto sensibilmente il colesterolo totale già dopo un mese di trattamento (200 ± 24 vs 133 ± 19 mg/dl; $p < 0.001$), così come il LDL-C (138 ± 18 vs 73 ± 17 mg/dl; $p < 0.001$), raggiungendo dopo un mese il target raccomandato (< 100 mg/dl) dalle recenti linee guida congiunte ADA/AHA (108). Non si sono riscontrate differenze nel HDL-C, mentre, curiosamente,

i livelli di trigliceridi risultavano significativamente ridotti al T1 (127 ± 54 vs 84 ± 23 mg/dl; $p<0.01$), per poi tornare quasi ai valori basali dopo sei mesi di trattamento.

La terapia con statine ha dimostrato anche in questo campione significativi effetti su alcuni mediatori dell'infiammazione sistemica, effetto ampiamente descritto in letteratura tra i cosiddetti "effetti pleiotropici" delle statine e probabilmente indipendente dalla riduzione del LDL-C. Di particolare importanza la riduzione al T2 dei livelli di PCR (2.4 ± 2.3 vs 1.3 ± 0.8 mg/l; $p<0.05$) e fibrinogeno (327 ± 57 vs 280 ± 51 mg/dl; $p=0.01$), mentre la riduzione dei livelli di TNF-alfa, evidente al T2, non ha raggiunto la significatività statistica a causa dell'estrema variabilità delle rilevazioni, favorita a sua volta dalla ridotta numerosità campionaria.

Come già riportato in letteratura, il trattamento con statine ha dimostrato di migliorare in maniera significativa la vasodilatazione endotelio-dipendente valutata mediante BART; l'aumento del FMD a livello dell'arteria brachiale è apparso evidente già dopo un mese di terapia, raggiungendo però la significatività statistica solo dopo sei mesi dalla randomizzazione (8.2 ± 3.4 vs 11.7 ± 3.2 %; $p<0.05$). In ogni caso la variazione percentuale del FMD è apparsa indipendente dalla riduzione percentuale del LDL-C, dai livelli di LDL-C basali, così come dall'età e dal braccio di trattamento assegnato, come evidenziato dall'analisi di regressione logistica multivariata (Tabella 2). Dopo sei mesi di trattamento si è riscontrato un peggioramento del compenso glicometabolico rispetto alla valutazione di base, come dimostrato dai valori medi Hb A1c (6.7 ± 0.7 vs 7.0 ± 0.4 %; $p=0.01$) e di glicemia basale (135 ± 21 vs 144 ± 21 mg/dl; $p=0.057$). Il peggioramento del compenso glicemico si è accompagnato ad un incremento a sei mesi (non significativo) dell'insulinemia basale, ad

un peggioramento della sensibilità insulinica (5.2 ± 2.3 vs 4.4 ± 2.5 mg/Kg/min; $p=0.061$) e ad una riduzione dei livelli circolanti di adiponectina (12.2 ± 6.9 vs 9.5 ± 3.8 mcg/ml; $p=0.095$).

Analizzando le differenze fra i due bracci di trattamento, entrambe le statine hanno ridotto in maniera significativa i livelli di colesterolo totale e di LDL-C dopo un mese di terapia, mantenendo costanti i valori dopo sei mesi; partendo da livelli di LDL-C sovrapponibili al T0 (140 ± 22 vs 134 ± 12 mg/dl; $p=NS$) la rosuvastatina 20 mg/die ha ridotto in maniera più efficace i livelli di LDL-C (58% vs 40%; $p=0.041$) rispetto a simvastatina 20 mg/die (Figura 1A, 1C). Effetti analoghi delle due terapie si sono evidenziati sul HDL-C e sui trigliceridi (Figura 1B, 1D). La rosuvastatina si è dimostrata più efficace della simvastatina nel modificare gli indici di infiammazione sistemica (PCR, fibrinogeno, TNF-alfa), raggiungendo la significatività statistica solo dopo sei mesi di trattamento (Figura 2A, 2B, 2C). Nonostante il diverso comportamento degli indici infiammatori, non si sono evidenziate differenze di rilievo fra i due bracci di trattamento nella stimolazione della vasodilatazione endotelio-dipendente, suggerendo l'ipotesi di un effetto di classe probabilmente diretto a modificare (migliorare) la biodisponibilità di NO a livello endoteliale.

In ultima analisi entrambe le statine hanno dimostrato di peggiorare, in generale, il compenso glicemico dopo sei mesi di trattamento (Figura 3A, 3B). I livelli di glicemia basale al T0 erano sovrapponibili fra i due gruppi (135 ± 20 vs 136 ± 24 mg/dl) mentre i valori al T2 erano significativamente più alti nel gruppo rosuvastatina vs simvastatina (149 ± 23 vs 139 ± 19 mg/dl; $p<0.05$). Anche i valori di HbA1c erano significativamente più alti al T2 rispetto al T0 in entrambi i gruppi, ma con una variazione più ampia nel gruppo rosuvastatina ($p<0.01$). In

entrambi i casi il peggioramento del compenso glicemico era accompagnato da un peggioramento della sensibilità insulinica a sei mesi, più evidente e statisticamente significativo soltanto nel gruppo di pazienti trattati con rosuvastatina ($p=0.04$) (Figura 3D).

5.4 Discussione

Il presente studio di intervento su pazienti affetti da T2D ha evidenziato come la terapia con due statine a differente solubilità (simvastatina e rosuvastatina) migliori in modo significativo la vasodilatazione endotelio-dipendente dopo sei mesi di terapia. L'effetto sulla reattività vascolare è sembrato indipendente dalla riduzione percentuale del LDL-C, dai livelli basali di LDL-C e dalla statina utilizzata. Rosuvastatina 20 mg/die è risultata più efficace di simvastatina 20 mg/die nel ridurre già dopo un mese il LDL-C; allo stesso modo ha dimostrato un'azione anti-infiammatoria più efficace, ma anche un peggioramento più marcato del compenso glicometabolico e della sensibilità insulinica.

Sulla base dei rapporti reciproci fra disfunzione endoteliale e insulino-resistenza (121,122), era possibile ipotizzare che il miglioramento della disfunzione endoteliale fosse accompagnato da un miglioramento simultaneo di altri parametri metabolici. Tuttavia entrambe le statine hanno peggiorato in maniera evidente sia la sensibilità insulinica che il compenso glicemico dopo sei mesi di trattamento, nonostante il miglioramento della vasodilatazione endotelio-dipendente. Queste variazioni non si sono accompagnate ad aumento di peso o in generale a modificazioni dei parametri antropometrici, dello stile di vita o delle abitudini alimentari dei

pazienti; sono apparse inoltre più marcate e statisticamente significative nel gruppo in terapia con rosuvastatina, verosimilmente per la maggiore efficacia farmacologica di questa molecola rispetto alla simvastatina a parità di posologia; a conferma di ciò la riduzione del LDL-C è risultata più marcata nel braccio in terapia con rosuvastatina. E' interessante notare come queste variazioni nella funzione endoteliale e nel metabolismo glicidico non siano risultate contemporanee alla riduzione del LDL-C: mentre infatti il target di LDL-C <100 mg/dl veniva raggiunto dopo un mese in entrambi i bracci di trattamento ($p < 0.001$ per entrambi), il miglioramento nel FMD% e il deterioramento della glicemia a digiuno e della sensibilità insulinica sono apparsi significativi soltanto dopo sei mesi. Queste osservazioni possono essere di supporto all'ipotesi secondo cui i cosiddetti "effetti pleiotropici" delle statine siano in realtà indipendenti dall'azione ipocolesterolemizzante e forse anche non mediati dall'inibizione della HMGCo-A reduttasi (25,26).

Il miglioramento della funzione endoteliale è stato invece accompagnato da un generale miglioramento di alcuni mediatori dell'infiammazione, quali fibrinogeno, PCR e la citokina pro-infiammatoria TNF-alfa. Anche in questo caso le variazioni appaiono significative soltanto dopo sei mesi di terapia e nel braccio di trattamento con rosuvastatina; poichè le proprietà anti-infiammatorie della simvastatina sono già state evidenziate da numerosi studi sia *in vitro* che *in vivo* (32,62), una possibile spiegazione per queste differenze è che esse siano dipendenti dalla dose efficace della statina utilizzata, come del resto già evidenziato da altri studi precedenti (63). Inoltre la terapia con rosuvastatina 20 mg/die ha recentemente dimostrato di ridurre in maniera significativa la PCR al di sotto di 2 mg/l in pazienti per il resto apparentemente sani (18).

E' difficile spiegare come mai in questo studio il miglioramento degli indici infiammatori mediato dalle statine si accompagni ad un peggioramento del metabolismo glicidico; è infatti ormai acclarato come l'infiammazione sistemica rappresenti una componente patogenetica centrale per l'aterosclerosi e il T2D (123,124) e come la presenza, ad esempio di elevati livelli circolanti di PCR sia associata ad incremento del rischio di insorgenza di T2D. Anche in questo caso una possibile spiegazione è fornita dall'effetto diretto della statina che, a fronte di un miglioramento della funzione endoteliale e dello stato infiammatorio, potrebbe interferire in maniera negativa sul metabolismo glicidico; come già detto, alcuni studi hanno evidenziato come le statine lipofile, specialmente ad alte dosi, possano ridurre la secrezione insulinica ed esacerbare l'insulino-resistenza (125). Inoltre potrebbe essere di interesse valutare l'eventuale variazione dei livelli circolanti di altre molecole coinvolte nella fisiopatologia dell'insulino-resistenza e della disfunzione endoteliale, quali l'adiponectina o la leptina.

In conclusione, i dati da questo studio di intervento su un gruppo di pazienti affetti da diabete di tipo 2 e dislipidemia secondaria suggeriscono significative modificazioni a carico della funzione endoteliale e del compenso glicemico dopo sei mesi di terapia con simvastatina o rosuvastatina; in ogni caso sono necessari ulteriori studi, su un maggior numero di pazienti e un periodo di trattamento più lungo, per valutare se e perchè la terapia con alcune statine in pazienti diabetici finalizzata a ridurre il LDL-C al di sotto di 100 mg/dl, determini un peggioramento del compenso glicemico e dell'insulino sensibilità, a fronte di un miglioramento della funzione endoteliale e dei marcatori di infiammazione sistemica.

6. TABELLE E FIGURE:

Tabella 1. Effetti della terapia statine in pazienti affetti da T2D

	T0	T1	T2	p*
peso (Kg)	82±10	81±9	81±11	NS
BMI (Kg/m²)	27±3	27±3	27±4	NS
waist (cm)	99±9	99±9	100±9	NS
FAT %	26.4±5.4	25.4±5.6	26.4±6.4	NS
Colesterolo tot. (mg/dl)	200±24	133±19	130±28	<0.001
HDL-C (mg/dl)	39±8	41±10	39±7	NS
LDL-C (mg/dl)	138±18	73±17	72±24	<0.001
Trigliceridi (mg/dl)	127±54	84±23	112±58	0.009
PCR (mg/l)	2.4±2.3	2.2±1.9	1.3±0.8	<0.05
Fibrinogeno (mg/dl)	327±57	324±66	280±51	0.01
TNF-alfa (pg/ml)	9.7±8.4	10.4±8.5	8.6±9.7	NS
FMD (%)	8.2±3.4	9.7±3.5	11.7±3.2	0.033
Glicemia (mg/dl)	135±21	138±23	144±21	0.057
Insulinemia (mcU/ml)	9.5±3.8	8.4±3.1	11.2±4.6	NS
Hb A1c (%)	6.7±0.7	6.5±0.5	7.0±0.4	0.01
Glucose Disposal mg/Kg/min	5.2±2.3	5.7±2.1	4.4±2.5	0.061
Adiponectina (mcg/ml)	12.2±6.9	13.4±6.3	9.5±3.8	0.095
Leptina (ng/ml)	5.1±6.5	3.3±3.2	2.7±2.1	0.042

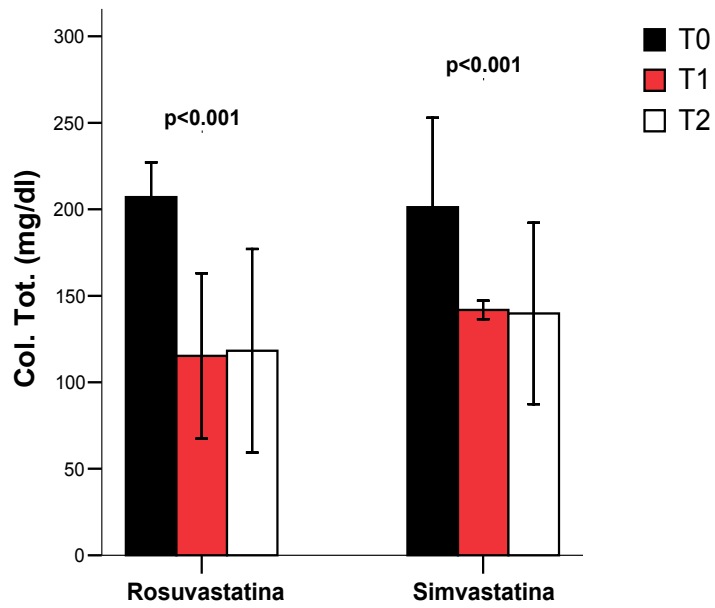
Dati espressi come media±DS. n=29 (57±9 anni).

Abbreviazioni: T0=baseline; T1=dopo 1 mese di trattamento; T2= dopo 6 mesi di trattamento

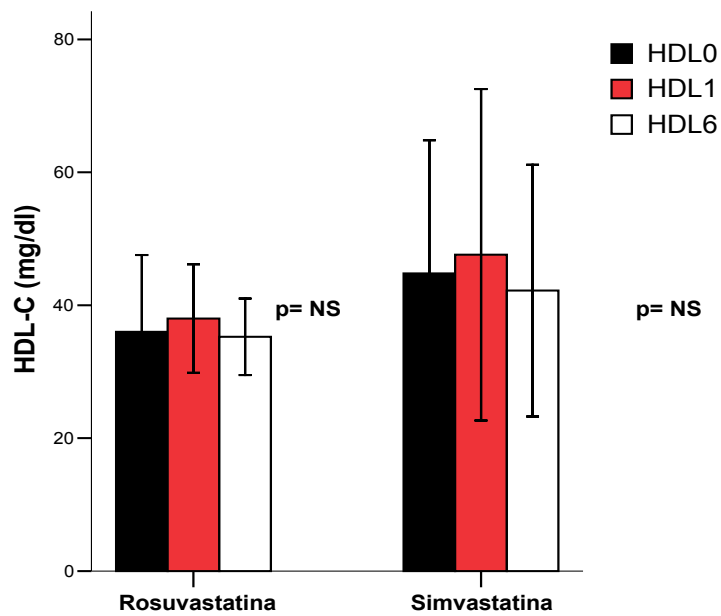
*Anova per misure ripetute.

Figura 1 (A, B, C, D). Effetti di rosuvastatina e simvastatina sul profilo lipidico.

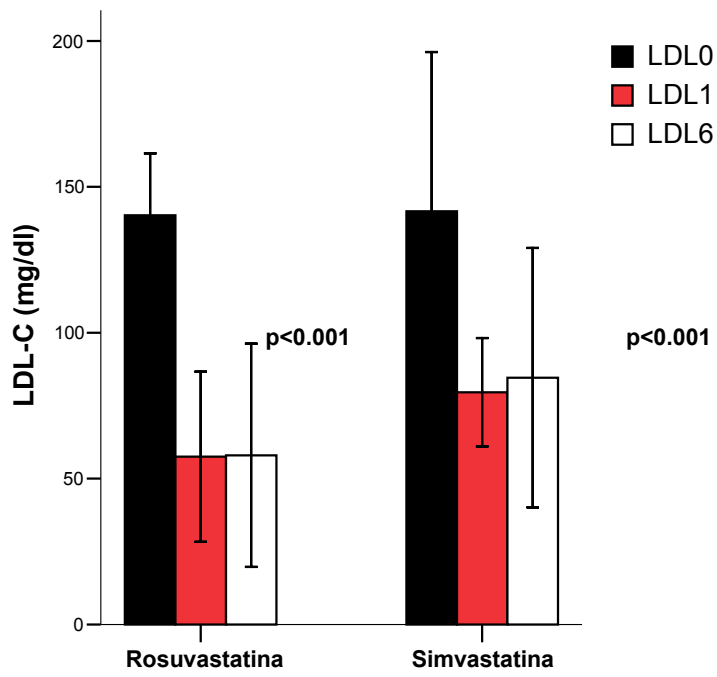
A.



B.



C.



D.

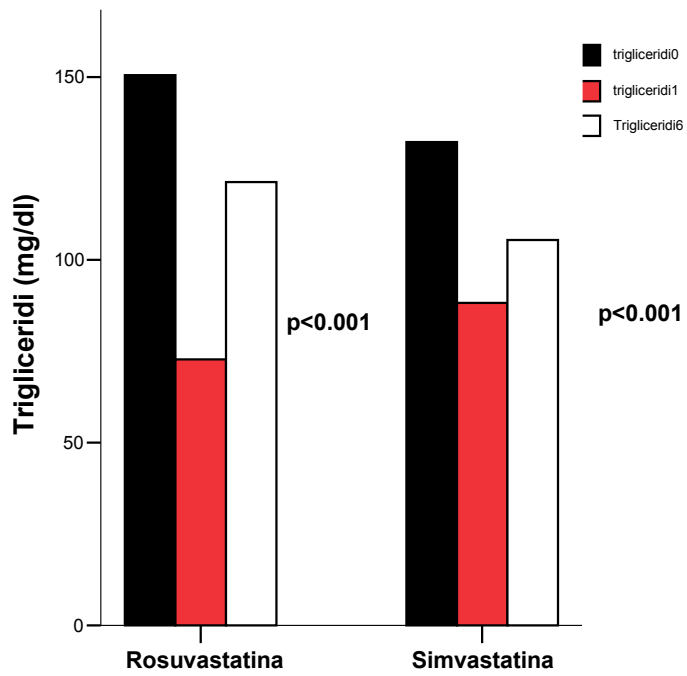
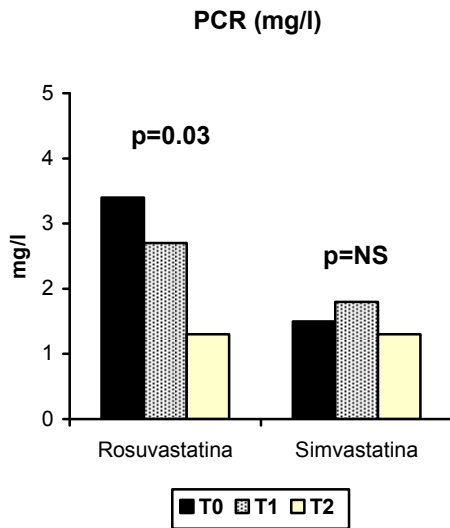
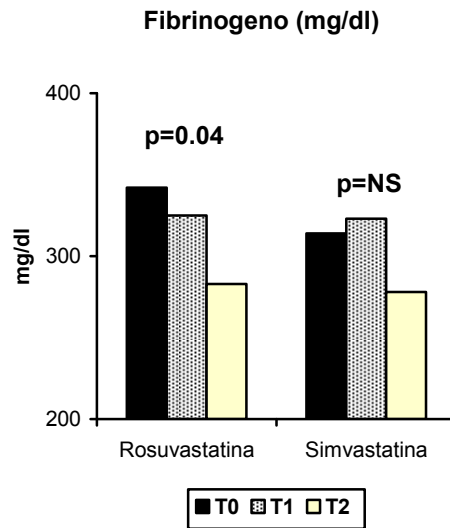


Figura 2 (A, B, C, D). Effetti di rosuvastatina e simvastatina sui indici infiammatori e funzione endoteliale (FMD).

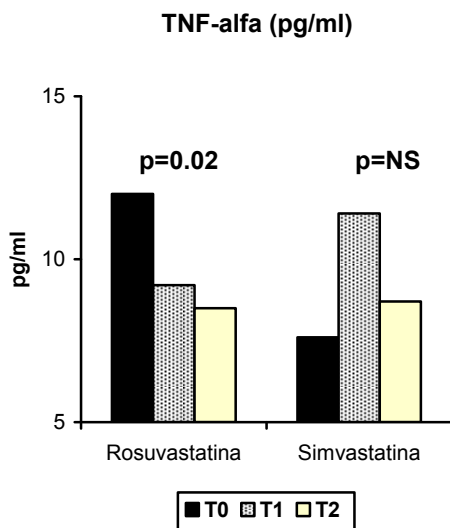
A.



B.



C.



D.

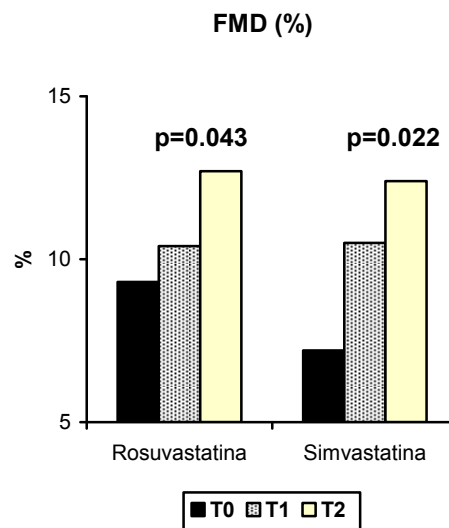
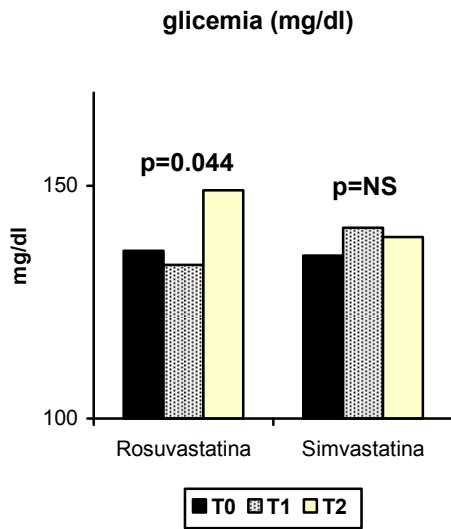
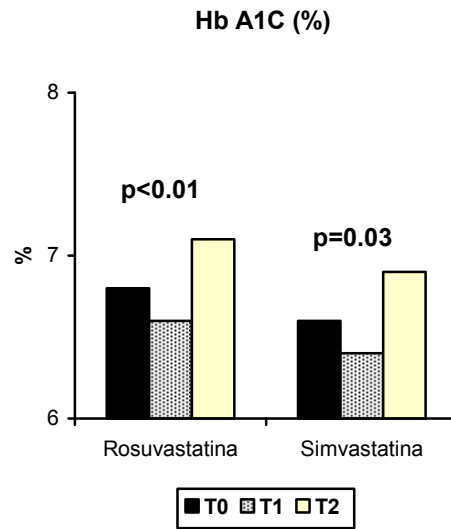


Figura 3 (A, B, C, D). Effetti di rosuvastatina e simvastatina sul compenso glicidico e sull'insulino-resistenza.

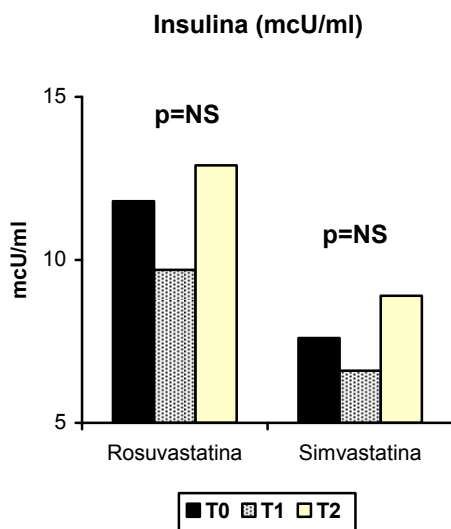
A.



B.



C.



D.

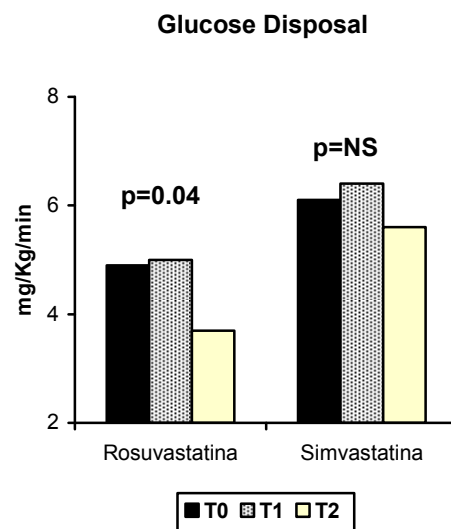


Tabella 2. Analisi multivariata delle variabili potenzialmente associate a variazione del FMD % dopo sei mesi di trattamento.

Variabile dipendente	Variabile indipendente	β	SE	p*	Model r^2 (adj)
Delta FMD %	Delta LDL-C %	-0.53	2.77	0.85	0.61
	LDL-C baseline	-2.42	1.57	0.1	
	Età	11.6	4.74	0.07	
	Braccio di trattamento (Rosu/Simva)	35.7	21.1	0.51	

Regressione logistica multipla stepwise utilizzando il metodo dei minimi quadrati.

N=29. Delta FMD % (variazione percentuale FMD); Delta LDL-C % (variazione percentuale LDL-C).

Model r^2 (adj)= proporzione della varianza spiegata dal modello.

7. BIBLIOGRAFIA

- (1) Endo A, Tsujita Y, Kuroda M, Tanzawa K. Inhibition of cholesterol synthesis in vitro and in vivo by ML-236A and ML-236B, competitive inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase. *Eur J Biochem*: 77:31–36, 1977.
- (2) Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins. Davignon J. *Circulation*: 15;109, 2004.
- (3) Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet*. 344: 1383–1389, 1994.
- (4) Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*: 232:34–47, 1986.
- (5) Grundy SM. Consensus statement: role of therapy with “statins” in patients with hypertriglyceridemia. *Am J Cardiol*: 81:1B–6B, 1998.
- (6) Kostner GM, Gavish D, Leopold B, Bolzano K, Weintraub MS, Breslow JL. HMG-CoA reductase inhibitors lower LDL

- cholesterol without reducing Lp(a) levels. *Circulation*: 80:1313–1319, 1989.
- (7) Bredie SJ, de Bruin TW, Demacker PN, Kastelein JJ, Stalenhoef AF. Comparison of gemfibrozil versus simvastatin in familial combined hyperlipidemia and effects on apolipoprotein-B-containing lipoproteins, low-density lipoprotein subfraction profile, and low-density lipoprotein oxidizability. *Am J Cardiol* ;75:348 –353, 1995.
 - (8) The Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet*, 344: 1383–1389, 1994.
 - (9) Bradford RH, Shear CL, Chremos AN, Dujovne C, Downton M, Franklin FA, Gould AL, Hesney M, Higgins J, Hurley DP, Langendorfer A, Nash DT, Pool JL, Schnaper H. Expanded clinical evaluation of lovastatin (EXCEL) study results, I: efficacy in modifying plasma lipoproteins and adverse event profile in 8245 patients with moderate hypercholesterolemia. *Arch Intern Med*; 151:43– 49, 1991.
 - (10) Pyorala K, Pedersen TR, Kjekshus J, Faergeman O, Olsson AG, Thorgeirsson G, for the Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Cholesterol lowering with simvastatin improves prognosis of diabetic patients with coronary heart disease. *Diabetes Care* ; 20:614-620, 1997.
 - (11) Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, Rouleau JL, Rutherford JD, Cole TG, Brown L, Warnica JW, Arnold JM, Wun CC, Davis BR, Braunwald E. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. *N Engl J Med*; 335: 1001–1009, 1996.

- (12) The Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease (LIPID) Study Group. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. *N Engl J Med*; 339:1349 –1357, 1998.
- (13) Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Rader DJ, Rouleau JL, Belder R, Joyal SV, Hill KA, Pfeffer MA, Skene AM. Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction. *N Engl J Med* ;350(15):1495-504, 2004.
- (14) Downs JR, Clearfield M, Weis S, et al. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCaPS. *JAMA*; 279:1615-22, 1998.
- (15) Sever PS, Dahlöf 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*, 361:1149-58, 2003.
- (16) Shepherd J, Cobbe S, Ford I, et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. *N Engl J Med*; 333:1301-7, 1995.
- (17) Ford I, Murray H, Packard CJ, Shepherd J, Macfarlane PW, Cobbe SM; West of Scotland Coronary Prevention Study Group. Long-term follow-up of the West of Scotland Coronary Prevention Study. *N Engl J Med*; 357(15):1477-86, 2007.

- (18) Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM Jr, Kastelein JJ, Koenig W, Libby P, Lorenzatti AJ, MacFadyen JG, Nordestgaard BG, Shepherd J, Willerson JT, Glynn RJ; JUPITER Study Group. *N Engl J Med*; 359:2195-207, 2008.
- (19) Hebert PR, Gaziano JM, Chan KS, Hennekens CH. Cholesterol lowering with statin drugs, risk of stroke, and total mortality. *JAMA*; 278: 313–321, 1997.
- (20) Salonen R, Nyyssonen K, Porkkala E, Rummukainen J, Belder R, Park JS, Salonen JT. Kuopio Atherosclerosis Prevention Study (KAPS): a population-based primary preventive trial of the effect of LDL lowering on atherosclerotic progression in carotid and femoral arteries. *Circulation*; 92:1758 –1764, 1995.
- (21) de Groot E, Jukema JW, Montauban van Swijndregt AD, Zwinderman AH, Ackerstaff RG, van der Steen AF, Bom N, Lie KI, Bruschke AV. B-mode ultrasound assessment of pravastatin treatment effect on carotid and femoral artery walls and its correlations with coronary arteriographic findings: a report of the Regression Growth Evaluation Statin Study (REGRESS). *J Am Coll Cardiol*; 31:1561–1567, 1998.
- (22) Pedersen TR, Kjekshus J, Pyorala K, Olsson AG, Cook TJ, Musliner TA, Tobert JA, Haghfelt T. Effect of simvastatin on ischemic signs and symptoms in the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Am J Cardiol*; 81:333–335, 1998.
- (23) Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, et al, for the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. *Circulation*; 100: 230–235, 1999.

- (24) Musial J, Undas A, Gajewski P, et al. Antiinflammatory effects of simvastatin in subjects with hypercholesterolemia. *Int J Cardiol*; 77:247–253, 2001.
- (25) Laufs U. Beyond lipid-lowering: effects of statin on endothelial nitric oxide. *Eur J Pharmacol*; 58:719–31, 2003.
- (26) Davignon J. Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins. *Circulation*; 109:39–43, 2004.
- (27) Weber C, Erl W, Weber KSC, et al. HMG-CoA reductase inhibitors decrease CD11b expression and CD11b-dependent adhesion of monocytes to endothelium and reduce increased adhesiveness of monocytes isolated from patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*; 30:1212–1217, 1997.
- (28) Weitz-Schmidt G, Welzenbach K, Brinkmann V, et al. Statins selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site. *Nat Med*; 7:687–692, 2001.
- (29) Murdoch C, Finn A. Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. *Blood*; 95:3032–3043, 2000.
- (30) Bustos C, Hernández-Presa MA, Ortego M, et al. HMG-CoA reductase inhibition by atorvastatin reduces neointimal inflammation in a rabbit model of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*; 32:2057–2064, 1998.
- (31) Romano M, Diomedede L, Sironi M, et al. Inhibition of monocyte chemotactic protein-1 synthesis by statins. *Lab Invest*; 80:1091–1100, 2000.
- (32) Diomedede L, Albani D, Sottocorno M, et al. In vivo antiinflammatory effect of statins is mediated by nonsterol mevalonate products. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 21:1327–1332, 2001.

- (33) Kureishi Y, Luo Z, Shiojima I, et al. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. *Nat Med*; 6:1004 –1010, 2000.
- (34) Vincent L, Soria C, Mirshahi F, et al. 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*; 22:623–629, 2002.
- (35) Urbich C, Dernbach E, Zeiher AM, et al. Double-edged role of statins in angiogenesis signaling. *Circ Res*; 90:737–744, 2002.
- (36) Axel DI, Riessen R, Runge H, et al. Effects of cerivastatin on human arterial smooth muscle cell proliferation and migration in transfilter cocultures. *J Cardiovasc Pharmacol*; 35:619–629, 2000.
- (37) 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*; 36:150 – 157, 2002.
- (38) Guijarro C, Blanco-Colio LM, Ortego M, et al. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase and isoprenylation inhibitors induce apoptosis of vascular smooth muscle cells in culture. *Circ Res*; 83:490 –500, 1998.
- (39) Kaneider NC, Reinisch CM, Dunzendorfer S, et al. Induction of apoptosis and inhibition of migration of inflammatory and vascular wall cells by cerivastatin. *Atherosclerosis*; 158:23–33, 2001.

- (40) Newton CJ, Xie Y-X, Burgoyne CH, et al. Fluvastatin induces apoptosis of vascular endothelial cells: blockade by glucocorticoids. *Cardiovasc Surg*; 11:52–60, 2003.
- (41) Blanco-Colio LM, Villa A, Ortego M, et al. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, induce apoptosis of vascular smooth muscle cells by downregulation of Bcl-2 expression and Rho A prenylation. *Atherosclerosis*; 161: 17–26, 2002.
- (42) Bennett MR. Apoptosis of vascular smooth muscle cells in vascular remodeling and atherosclerotic plaque rupture. *Cardiovasc Res.*; 41:361–368, 1999.
- (43) Chen Z, Fukutomi T, Zago AC, et al. Simvastatin reduces neointimal thickening in low-density lipoprotein receptor-deficient mice after experimental angioplasty without changing plasma lipids. *Circulation.*; 106:20–23, 2002.
- (44) Martinet W, Kockx MM. Apoptosis in atherosclerosis: focus on oxidized lipids and inflammation. *Curr Opin Lipidol*; 12:535–541, 2001.
- (45) Luttun A, Dewerchin M, Collen D, et al. The role of proteinases in angiogenesis, heart development, restenosis, atherosclerosis, myocardial ischemia, and stroke: insights from genetic studies. *Curr Atheroscler Rep.*; 2:407–416, 2000.
- (46) Libby P, Schönbeck U. Drilling for oxygen: angiogenesis involves proteolysis of the extracellular matrix. *Circ Res*; 89:195–197, 2001.
- (47) Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res*; 90: 251–262, 2002.

- (48) Koh KK. Effects of statins on vascular wall: vasomotor function, inflammation, and plaque stability. *Cardiovasc Res*; 47:648–657, 2000.
- (49) Ikeda U, Shimpo M, Ohki R, et al. Fluvastatin inhibits matrix metalloproteinase-1 expression in human vascular endothelial cells. *Hypertension*; 36:325–329, 2000.
- (50) Bellosta S, Via D, Canavesi M, et al. HMG-CoA reductase inhibitors reduce MMP-9 secretion by macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 18:1671–1678, 1998.
- (51) Colli S, Eligini S, Lalli M, et al. Vastatins inhibit tissue factor in cultured human macrophages. A novel mechanism of protection against atherothrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 17:265–272, 1997.
- (52) Eto M, Kozai T, Cosentino F, et al. Statin prevents tissue factor expression in human endothelial cells: role of Rho/Rho-kinase and Akt pathways. *Circulation*; 105:1756–1759, 2002.
- (53) Essig M, Nguyen G, Prie D, et al. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors increase fibrinolytic activity in rat aortic endothelial cells. Role of geranylgeranylation and Rho proteins. *Circ Res*; 83:683–690, 1998.
- (54) Bourcier T, Libby P. HMG CoA reductase inhibitors reduce plasminogen activator inhibitor-1 expression by human vascular smooth muscle and endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 20:556–562, 2000.
- (55) Dangas G, Smith DA, Unger AH, et al. Pravastatin: an antithrombotic effect independent of the cholesterol-lowering effect. *Thromb Haemost.*; 83:688–692, 2000.

- (56) Mayer J, Eller T, Brauer P, et al. Effects of long-term treatment with lovastatin on the clotting system and blood platelets. *Ann Hematol*; 64:196–201, 1992.
- (57) Degraeve F, Bolla M, Blaie S, et al. Modulation of COX-2 expression by statins in human aortic smooth muscle cells. Involvement of geranylgeranylated proteins. *J Biol Chem*; 276:46849–46855, 2001.
- (58) Seeger H, Mueck AO, Lippert TH. Fluvastatin increases prostacyclin and decreases endothelin production by human umbilical vein endothelial cells. *Int J Clin Pharmacol Ther*; 38:270–272, 2000.
- (59) Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, et al, for the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. *Circulation*; 98:839–844, 1998.
- (60) Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, et al. Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. *N Engl J Med*; 343:1139–1147, 2000.
- (61) Albert MA, Danielson E, Rifai N, et al. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels—The Pravastatin Inflammation/CRP Evaluation (PRINCE): a randomized trial and cohort study. *JAMA*; 286:64–70, 2001.
- (62) Jialal I, Stein D, Balis D, et al. Effect of hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase inhibitor therapy on high sensitive C-reactive protein levels. *Circulation*; 103:1933–1935, 2001.
- (63) van Wissen S, Trip MD, Smilde TJ, et al. Differential hs-CRP reduction in patients with familial hypercholesterolemia treated

- with aggressive or conventional statin therapy. *Atherosclerosis*; 165:361–366, 2002.
- (64) Blake GJ, Ridker PM. Novel clinical markers of vascular wall inflammation. *Circ Res*; 89:763–771, 2001.
- (65) Hackman A, Abe Y, Insull W Jr, et al. Levels of soluble cell adhesion molecules in patients with dyslipidemia. *Circulation*; 93:1334–1338, 1996.
- (66) Seljeflot I, Tonstad S, Hjermann I, et al. Reduced expression of endothelial cell markers after 1 year treatment with simvastatin and atorvastatin in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis*; 162: 179–185, 2002.
- (67) Wiklund O, Mattsson-Hultén L, Hurt-Camejo E, et al. Effects of simvastatin and atorvastatin on inflammation markers in plasma. *J Intern Med*; 251:338–347, 2002.
- (68) Weitz-Schmidt G, Welzenbach K, Brinkmann V, et al. Statins selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site. *Nature Med*; 7:687–692, 2001.
- (69) Llorente-Cortés V, Martínez-González J, Badimon L. Esterified cholesterol accumulation induced by aggregated LDL uptake in human vascular smooth muscle cells is reduced by HMG-CoA reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 18:738–746, 1998.
- (70) Pietsch A, Erl W, Lorenz RL. Lovastatin reduces expression of the combined adhesion and scavenger receptor CD36 in human monocytic cells. *Biochem Pharmacol*; 52:433–439, 1996.
- (71) Li DY, Chen HJ, Mehta JL. Statins inhibit oxidized-LDL-mediated LOX-1 expression, uptake of oxidized-LDL and

- reduction in PKB phosphorylation. *Cardiovasc Res*; 52:130–135, 2001.
- (72) Crisby M, Nordin-Fredriksson G, Shah PK, et al. Pravastatin treatment increases collagen content and decreases lipid content, inflammation, metalloproteinases, and cell death in human carotid plaques: implications for plaque stabilization. *Circulation*; 103:926–933, 2001.
- (73) Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation*; 101:1899–1906, 2000.
- (74) Eichstadt HW, Eskotter H, Hoffman I, et al. Improvement of myocardial perfusion by short-term fluvastatin therapy in coronary artery disease. *Am J Cardiol*; 76:122A–125A, 1995.
- (75) O'Driscoll G, Green D, Taylor RR. Simvastatin, an HMG-coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month. *Circulation*; 95:1126–1131, 1997.
- (76) Marchesi S, Lupattelli G, Siepi D, et al. Short-term atorvastatin treatment improves endothelial function in hypercholesterolemic women. *J Cardiovasc Pharmacol*; 36:617–621, 2000.
- (77) Laufs U, Wassmann S, Hilgers S, et al. Rapid effects on vascular function after initiation and withdrawal of atorvastatin in healthy, noncholesterolemic men. *Am J Cardiol*; 88:1306–1307, 2001.
- (78) Anderson TJ, Meredith IT, Yeung AC, et al. The effect of cholesterol lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Engl J Med*; 332:488–493, 1995.

- (79) van de Ree MA, Huisman MV, de Man FH, et al. Impaired endothelium- dependent vasodilatation in type 2 diabetes mellitus and the lack of effect of simvastatin. *Cardiovasc Res*; 52:299–305, 2001.
- (80) van Etten RW, de Koning EJ, Honing ML, et al. Intensive lipid lowering by statin therapy does not improve vasoreactivity in patients with type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 22:799–804, 2002.
- (81) Tan KCB, Chow WS, Tam VHG, et al. Atorvastatin lowers C-reactive protein and improves endothelium-dependent vasodilatation in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*; 87:563–568, 2002.
- (82) Mullen MJ, Wright D, Donald AE, et al. Atorvastatin but not L-arginine improves endothelial function in type 1 diabetes mellitus: a double-blind study. *J Am Coll Cardiol*; 36:410–416, 2000.
- (83) Feron O, Dessy C, Desager JP, et al. Hydroxy-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibition promotes endothelial nitric oxide synthase activation through a decrease in caveolin abundance. *Circulation*; 103: 113–118, 2001.
- (84) Romano M, Mezzetti A, Marulli C, et al. Fluvastatin reduces soluble P-selectin and ICAM-1 levels in hypercholesterolemic patients: role of nitric oxide. *J Invest Med*; 48:183–189, 2000.
- (85) Laufs U, Liao JK. Post-transcriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase mRNA stability by Rho GTPase. *J Biol Chem*; 273: 24266–24271, 1998.
- (86) Kureishi Y, Luo ZY, Shiojima I, et al. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and

- promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. *Nature Med*; 6:1004–1010, 2000.
- (87) Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidant vitamin supplementation in 20 536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*; 360:23–33, 2002.
- (88) Suzumura K, Yasuhara M, Tanaka K, et al. Protective effect of fluvastatin sodium (XU-62–320), a 3-hydroxy- 3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitor, on oxidative modification of human low-density lipoprotein in vitro. *Biochem Pharmacol*; 57:697–703, 1999.
- (89) Aviram M, Hussein O, Rosenblat M, et al. Interactions of platelets, macrophages, and lipoproteins in hypercholesterolemia: antiatherogenic effects of HMG-CoA reductase inhibitor therapy. *J Cardiovasc Pharmacol*; 31:39–45, 1998.
- (90) Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, et al. Atorvastatin and gemfibrozil metabolites, but not the parent drugs, are potent antioxidants against lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis*; 138:271–280, 1998.
- (91) Giroux LM, Davignon J, Naruszewicz M. Simvastatin inhibits the oxidation of low-density lipoproteins by activated human monocyte-derived macrophages. *Biochim Biophys Acta*; 1165:335–338, 1993.
- (92) Fuhrman B, Koren L, Volkova N, et al. Atorvastatin therapy in hypercholesterolemic patients suppresses cellular uptake of oxidized-LDL by differentiating monocytes. *Atherosclerosis*; 164:179–185, 2002.

- (93) Simvastatin treatment on the electronegative low-density lipoprotein present in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*; 84:655–659, 1999.
- (94) Kobashigawa JA, Katznelson S, Laks H, et al. Effect of pravastatin on outcomes after cardiac transplantation. *N Engl J Med*; 333:621–627, 1995.
- (95) Laurat E, Poirier B, Tupin E. In vivo downregulation of T helper cell 1 immune responses reduces atherogenesis in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation*; 104:197–202, 2001.
- (96) Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F. Statins as newly recognized type of immunomodulator. *Nature*; 1399–402, 2000.
- (97) Menge T, Hartung H-P, Stuve O. Statins—a cure-all for the brain? *Nat Rev*; 6:325–51, 2005.
- (98) Dimmeler S, Aicher A, Vasa M, et al. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via the PI 3-kinase/Akt pathway. *J Clin Invest*; 108:391–397, 2001.
- (99) Vasa M, Fichtlscherer S, Adler K, et al. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation*; 103:2885–2890, 2001.
- (100) Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 98:10344–10349, 2001.
- (101) Takemoto M, Node K, Nakagami H, et al. Statins as antioxidant therapy for preventing cardiac myocyte hypertrophy. *J Clin Invest*; 108:1429–1437, 2001.
- (102) CORONA Group. Rosuvastatin in older patients with systolic heart failure. *N Engl J Med*; 357:2248-61, 2007.

- (103) Targets for intervention in dyslipidemia in diabetes. Tomkin GH. *Diabetes Care*;31 Suppl 2:S241-8, 2008.
- (104) Dean JD, Durrington PN. Treatment of dyslipoproteinaemia in diabetes mellitus. *Diabet Med* 13:297–312, 1996.
- (105) Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol-lowering with simvastatin in 5963 people with diabetes: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, 361: 2005–2016, 2003.
- (106) Pyorala K, Pedersen TR, Kjekshus J, Faergeman O, Olsson AG, Thorgeirsson G, for the Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Cholesterol lowering with simvastatin improves prognosis of diabetic patients with coronary heart disease. *Diabetes Care*: 614-620, 1997.
- (107) Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C, Kirby A, Sourjina T, Peto R, Collins R, Simes R, for the Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaborators. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet*, 366:1267–1278, 2005.
- (108) Primary prevention of cardiovascular diseases in people with diabetes mellitus: a scientific statement from the American Heart Association and the American Diabetes Association. Buse JB, Ginsberg HN, Bakris GL, Clark NG, Costa F, Eckel R, Fonseca V, Gerstein HC, Grundy S, Nesto RW, Pignone MP, Plutzky J, Porte D, Redberg R, Stitzel KF, Stone NJ. American Heart Association; American Diabetes Association. *Diabetes Care*; 30(1):162-72, 2007.
- (109) Bhatt DL, Steg PG, Ohman EM, Hirsch AT, Ikeda Y, Mas JL, Goto S, Liao CS, Richard AJ, Röther J, Wilson PW, for the

- REACH Investigators. International prevalence, recognition, and treatment of cardiovascular risk factors in outpatients with atherothrombosis. *JAMA*; 295:180 –189, 2006.
- (110) Shepherd J, Barter P, Carmena R, Deedwania P, Fruchart JC, Haffner S, Hsia J, Breazna A, LaRosa J, Grundy S, Waters D. Effect of lowering LDL cholesterol substantially below currently recommended levels in patients with coronary heart disease and diabetes: the Treating to New Targets (TNT) study. *Diabetes Care*; 29:1220 –1226, 2006.
- (111) Sabatine MS, Wiviott SD, Morrow DA, McCabe CH, Cannon CP, TIMI Study Group: High-dose atorvastatin associated with worse glycemic control: a PROVE-IT TIMI 22 substudy. *Circulation* 110 (Suppl. III):834, 2004.
- (112) Influences of statins on glucose tolerance in patients with type 2 diabetes mellitus. Takano T, Yamakawa T, Takahashi M, Kimura M, Okamura A. *J Atheroscler Thromb*; 13(2):95-100, 2006.
- (113) Effect of atorvastatin (10 mg/day) on glucose metabolism in patients with the metabolic syndrome. Huptas S, Geiss HC, Otto C, Parhofer KG. *Am J Cardiol*; 98(1):66-9, 2006.
- (114) Pravastatin and the development of diabetes mellitus: evidence for a protective treatment effect in the West of Scotland Coronary Prevention Study. Freeman DJ, Norrie J, Sattar N, Neely RD, Cobbe SM, Ford I, Isles C, Lorimer AR, Macfarlane PW, McKillop JH, Packard CJ, Shepherd J, Gaw A. *Circulation*; 103(3):357-62, 2001.
- (115) Paolisso G, Barbagallo M, Petrella G, Ragno E, Barbieri M, Giordano M, Varricchio M: Effects of simvastatin and atorvastatin administration on insulin resistance and respiratory

- quotient in aged dyslipidemic non-insulin dependent diabetic patients. *Atherosclerosis* 150:121–127, 2000.
- (116) Devaraj S, Siegel D, Jialal I: Simvastatin (40 mg/day) adiponectin levels, and insulin sensitivity in subjects with the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 100:1397– 1399, 2007.
- (117) Ohrvall M, Lithell H, Johansson J, Vessby B: A comparison between the effects of gemfibrozil and simvastatin on insulin sensitivity in patients with non-insulindependent diabetes mellitus and hyperlipoproteinemia. *Metabolism* 44:212–217, 1995.
- (118) Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. *Am J Physiol*; 237(3):E214-23, 1979.
- (119) Expert Panel on the Detection Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults: Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Treatment Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*; 285:2486-97, 2001.
- (120) Methods for evaluating endothelial function in humans. Barac A, Campia U, Panza JA. *Hypertension*: 748-60, 2007.
- (121) Han SH, Quon MJ, Koh KK: Reciprocal relationships between abnormal metabolic parameters and endothelial dysfunction. *Curr Opin Lipidol*: 58–65, 2007.
- (122) Muniyappa R, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ: Cardiovascular actions of insulin. *Endocr Rev* :463– 491, 2007.
- (123) Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*; 420:868–874, 2002.

- (124) Bruce B. Duncan, Maria Inês Schmidt, James S. Pankow, Christie M. Ballantyne, David Couper, Alvaro Vigo, Ron Hoogeveen, Aaron R. Folsom, and Gerardo Heiss. Low-Grade Systemic Inflammation and the Development of Type 2 Diabetes: The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Diabetes*: 1799-1805, 2003.
- (125) Kanda M, Satoh K, Ichihara K: Effects of atorvastatin and pravastatin on glucose tolerance in diabetic rats mildly induced by streptozotocin. *Biol Pharm Bull*:1681–1684, 2003.