



**FILIPE MIGUEL PEREIRA VIEIRA**

**EFEITOS PLEIOTRÓPICOS DAS ESTATINAS E SUAS INTERACÇÕES COM  
ANTICOAGULANTES E ANTIAGREGANTES PLAQUETARES**

**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

**ABRIL | 2011**

## Índice

Lista de figuras .....	5
Lista de abreviaturas .....	6
Resumo .....	9
Abstract .....	11
I – Introdução .....	13
II – Objectivos e metodologia da revisão .....	13
III – Estatinas: propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas .....	14
1 – Efeito anti-colesterolémico .....	14
2 - Propriedades farmacocinéticas .....	15
IV – Efeitos pleiotrópicos das estatinas .....	19
1 - Estatinas e isoprenóides .....	19
2 - Efeitos das estatinas na síntese do monóxido de azoto e no miocárdio .....	21
3 - Efeito das estatinas na inflamação .....	23
4 - Estatinas e plaquetas .....	23
5 - Outros efeitos das estatinas .....	24
6 - Perspectivas futuras para utilização clínica das estatinas .....	25
6.1- Estatinas e AVC .....	25
6.2 - Estatinas e demência .....	26
V – Efeitos das estatinas na coagulação e na fibrinólise .....	26
1 – Efeitos no fibrinogénio .....	26
2 - Efeitos no factor tecidual .....	28
3- Efeitos no factor VII .....	30
4 – Efeitos no inibidor da via do factor tecidual .....	31
5 – Efeitos sobre a trombina .....	32

6 - Efeitos na fibrinólise .....	36
VI – Interações das estatinas com anticoagulantes e anti-agregantes plaquetares .....	40
1 – Interação entre estatinas e aspirina, dipiridamol e/ou cilostazol .....	40
2 - Interação entre estatinas e clopidogrel .....	47
3 - Interação entre estatinas e varfarina .....	52
VII – Conclusão .....	56
VIII – Referências bibliográficas .....	58

## **Lista de figuras**

**Figura 1.** Acções biológicas dos isoprenóides. As estatinas inibem a actividade da HMG-CoA reductase e reduzem a isoprenilação de moléculas sinalizadoras intracelulares, como o RhoA, Rac1 e Cdc42.

**Figura 2.** Estrutura bioquímica das estatinas.

**Figura 3.** Mecanismos de protecção miocárdica contra lesões isquémicas de reperfusão pelas estatinas e agentes antiplaquetares.

**Figura 4.** Tamanho do enfarte do miocárdio em ratos, apresentado na percentagem da área em risco.

**Figura 5.** Tamanho do enfarte do miocárdio em ratos, apresentado na percentagem da área em risco.

**Figura 6.** Tamanho do enfarte do miocárdio em ratos, apresentado na percentagem da área em risco.

## Lista de abreviaturas

15-R-HETE - 15-R-hidroieicosatetraenoico

AD - Doença de Alzheimer

ADP - Adenosina 5'-difosfato

AINE - Anti-inflamatório não-esteróide

ASA - Ácido acetilsalicílico (aspirina)

ATROCAP - *Atorvastatin and Thrombogenicity of the Carotid Atherosclerotic Plaque*

ATV - Atorvastatina

AVC - Acidente vascular cerebral

BMP-2 - Proteína morfogenética do osso 2

cAMP - Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico

COX - Cicloxigenase

cPLA2 - Fosfolipase A2 citosólica

CYP - Citocromo P450

DAC - Doença arterial coronária

DM - Diabetes mellitus

EAM - Enfarte agudo do miocárdio

EM - Enfarte do miocárdio

eNOS - Sintetase endotelial do monóxido de azoto

F1+2 - Fragmento da protrombina

FAI - índice da actividade fibrinolítica

FPA - Fibrinopeptídeo A

FPB - Fibrinopeptídeo B

FPP - Farnesilpirofosfato

FT - Factor tecidual

Fva - Factor V activado

FVII - Factor VII

FVIIa - Factor VII activado

Fxa - Factor X activado

GDP - Guanosina 5'-difosfato

GGPP - Geranylgeranylpirofosfato

GTP - Guanosina 5'-trifosfato

HMG-CoA - 3-Hidroxi-3-metilglutaril coenzima A

HTA - Hipertensão arterial

iNOS - Sintetase indutível do monóxido de azoto

INR - Razão normalizada internacional

LDL - Lipoproteína de baixa densidade

LPS - Lipopolissacarídeo

MMP - Metaloproteinase de matriz

mRNA - Ácido ribonucleico mensageiro

NADPH - Dinucleótido de nicotinamida/adenina fosfato

NO - Monóxido de azoto

NOS - Sintetase do monóxido de azoto

PAI-1 - Inibidor do activador do plasminogénio 1

PAR-1 - Receptor 1 da trombina activado por proteases

PARs - Receptores activados por proteases

PCI - Intervenção coronária percutânea

PDF - Produtos de degradação do fibrinogénio

PGH2 - Prostaglandina H2 sintase / COX

PI3-K - Cinase 3 do fosfatidilinositol

PKA - Proteína cinase A

PPAR - Receptores activadores de peroxissomas proliferativos

PT - Tempo de protrombina

ROCK - Proteína cinase associada ao Rho

ROS - Espécies reactivas ao oxigénio

SAA - Amiloide A do soro

SCA - Síndrome coronário agudo

TAC - Tomografia axial computadorizada

TAT - Complexo trombina-antitrombina III

TFPI - Inibidor da via do factor tecidual

TGF- $\beta$  - Factor de crescimento transformador  $\beta$  1

TNF- $\alpha$  - Factor de necrose tumoral  $\alpha$

tPA - Activador do plasminogénio tecidual

TXA2 - Tromboxano A2

WHHL - *Watanabe Heritable Hiperlipidemic*

## **Resumo**

**Introdução:** As estatinas, ou inibidores da enzima 3-Hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductase, são potentes inibidores da biossíntese do colesterol, sendo usadas sobretudo na hipercolesterolemia. Estudos clínicos sugerem que os benefícios das estatinas podem não ser apenas devidos às suas propriedades hipolipemiantes, mas também aos seus efeitos pleiotrópicos. Estudos experimentais e clínicos têm mostrado que as estatinas apresentam efeitos benéficos sobre os parâmetros hemostáticos, principalmente aqueles que são factores de risco para doença cardiovascular. A co-administração de estatinas e anticoagulantes ou anti-agregantes plaquetares é comum na prática clínica. Neste contexto, é importante determinar se existe alguma interacção entre estes fármacos, tanto para ajuste de doses como para avaliar a existência de aspectos que contra-indiquem a utilização de algumas destas associações.

**Objectivos:** Actualizar e rever as bases fisiopatológicas dos efeitos independentes do colesterol, ou pleiotrópicos, das estatinas, bem como os seus efeitos sobre os parâmetros hemostáticos e as interacções que possam existir com agentes anticoagulantes e anti-agregantes plaquetares.

**Desenvolvimento:** Estudos recentes sugerem que as estatinas podem ser eficazes na prevenção de acidentes vasculares cerebrais isquémicos ou na doença de Alzheimer. Há dados que sugerem que a maior parte dos efeitos pleiotrópicos das estatinas são consequência da inibição da síntese de isoprenóides, que vão afectar várias vias de sinalização posteriores. São estas acções que vão produzir um efeito favorável em alguns parâmetros da coagulação e da fibrinólise que se pensam serem factores de risco para o desenvolvimento de doença cardiovascular. As possíveis interacções entre estatinas e antiplaquetares ou anticoagulantes

têm por base não só os efeitos pleiotrópicos das estatinas, mas também a sua metabolização pelas enzimas hepáticas.

**Conclusão:** Vários autores descobriram que as estatinas produzem um efeito favorável em alguns parâmetros da coagulação e da fibrinólise, que se pensam serem factores de risco para o desenvolvimento de doença cardiovascular. A aspirina combinada com estatinas não revelou um efeito benéfico na limitação do tamanho do enfarte do miocárdio, enquanto que o dipiridamol e o cilostazol apresentaram um efeito sinérgico. A maioria dos estudos clínicos não detectaram a possível interacção farmacocinética entre estatinas e clopidogrel. Nos pacientes em tratamento com a combinação estatinas-varfarina deve ter-se em conta o risco de hemorragia. Mais estudos, mais bem elaborados, são necessários para esclarecer de forma mais cabal a existência destas interacções, sua relevância e implicações clínicas.

**Palavras-chave:** estatinas, efeitos pleiotrópicos, fibrinólise, coagulação, anticoagulantes, anti-agregantes plaquetares, interacções.

## **Abstract**

**Introduction:** Statins or 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors are potent inhibitors of cholesterol biosynthesis mostly used in hypercholesterolemia. Clinical studies suggest that the benefits of statins may not only be due to their lipid lowering properties, but also to their pleiotropic effects. Experimental and clinical studies have shown that statins have beneficial effects on hemostatic parameters, especially those who are risk factors for cardiovascular disease. The coadministration of statins and anticoagulants or antiplatelets is common in clinical practice. Therefore, it is important to determine whether there is any interaction between these drugs, both for dose adjustments and to assess any aspects that would contraindicate the use of some of these associations.

**Objectives:** Update and review the physiological bases of the cholesterol-independent, or pleiotropic, effects of statins, as well as their effects on hemostatic parameters and interactions that may exist with anticoagulant and antiplatelet agents.

**Development:** Recent studies suggest that statins may effectively prevent ischemic stroke or Alzheimer's disease. Data suggests that most of the pleiotropic effects of statins are due to the inhibition of isoprenoids synthesis, which will affect several downstream signaling pathways. This will produce a favorable effect on some parameters of coagulation and fibrinolysis that are thought to be risk factors for developing cardiovascular disease. Suspected interactions between statins and antiplatelet or anticoagulant drugs are due to both pleiotropic effects of statins and their metabolism by the liver enzymes.

**Conclusion:** Several authors have found that statins produce a favorable effect on some parameters of coagulation and fibrinolysis that are thought to be risk factors for developing

cardiovascular disease. Aspirin-statins coadministration did not show a beneficial effect in limiting the size of myocardial infarction, while the dipyridamole and cilostazol showed a synergistic effect. Most clinical studies didn't detect the possible pharmacokinetic interaction between statins and clopidogrel. The risk of bleeding must be taken into account in patients treated with the statin-warfarin combination. More and better elaborated studies are needed to further elucidate about the existence of these interactions, their relevance and clinical implications.

**Keywords:** statins, pleiotropic effects, fibrinolysis, coagulation, anticoagulants, antiplatelets, interactions.

## **I – Introdução**

As estatinas são fármacos inibidores da 3-Hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductase, que inibem a biossíntese do colesterol (Zhou et al., 2010), sendo a sua principal aplicação terapêutica as hipercolesterolemias (Bhindi et al., 2008). Estudos clínicos sugerem que os benefícios das estatinas podem não ser apenas devido às suas propriedades hipolipemiantes mas também aos seus efeitos independentes do colesterol, ou efeitos pleiotrópicos (Zhou et al., 2010).

Numerosos estudos têm demonstrado que os distúrbios da coagulação e fibrinólise contribuem para o desenvolvimento e progressão da aterosclerose. As estatinas parecem apresentar efeitos benéficos sobre os parâmetros hemostáticos, principalmente aqueles que são factores de risco para a doença cardiovascular (Krysiak et al., 2003).

A co-administração de estatinas e anticoagulantes ou anti-agregantes plaquetares é comum na prática clínica. Assim, é importante determinar se existe alguma interação entre estes fármacos tanto para ajuste de doses como para avaliar se existe alguma consequência que contra-indique a utilização de alguma destas associações.

## **II – Objectivos e metodologia da revisão**

Actualizar e rever as bases fisiopatológicas dos efeitos independentes do colesterol, ou pleiotrópicos, das estatinas, bem como os seus efeitos sobre os parâmetros hemostáticos e as interacções que possam existir com anticoagulantes e anti-agregantes plaquetares.

Foi feita uma revisão sistemática, utilizando a base de dados do *Pubmed*. Para efectuar a pesquisa foram utilizadas as palavras “*statins*”, “*pleiotropic effects*”, “*fibrinolysis*”, “*coagulation*”, “*anticoagulants*”, “*antiplatelets*” e “*interactions*”. Foram utilizados os artigos

mais relevantes para os objectivos da revisão e procurou-se usar os artigos mais recentes existentes na literatura. As referências, consideradas importantes, encontradas nos 48 artigos seleccionados foram também revistas para melhoria do conteúdo deste trabalho.

### **III – Estatinas: propriedades farmacodinâmicas e fármacocinéticas**

#### **1 – Efeito anti-colesterolémico**

As estatinas são inibidores potentes da biossíntese do colesterol. Estas são comumente usadas na prevenção primária e secundária de doença arterial coronária (DAC). A sua importância clínica advém da sua segurança relativa comparada com a de outros agentes hipolipemiantes e o seu efeito benéfico na mortalidade e morbidade, particularmente na área de doença cardiovascular (LaRosa et al., 1999; Zhou et al., 2010).

Estudos recentes mostraram que uma diminuição maior de colesterol-LDL pelas estatinas apresenta mais benefícios clínicos (Cannon et al., 2004). As estatinas reduzem os eventos cardiovasculares não só em pacientes hipercolesterolemicos mas também normocolesterolémicos com doença cardíaca coronária ou riscos cardiovasculares (Wang et al., 2008).

Níveis de colesterol elevados são um factor de risco importante para doença cardiovascular, e baixos níveis de colesterol estão associados a menores riscos de doença cardiovascular (Sytkowski et al., 1990). Uma vez que os níveis de colesterol plasmático estão associados com doença cardíaca coronária, assumiu-se que os efeitos benéficos da terapêutica com estatinas estavam relacionados totalmente com a redução do colesterol. Contudo, os efeitos das estatinas podem não ser apenas devido às suas propriedades hipolipemiantes, mas

possivelmente aos seus efeitos independentes do colesterol ou pleiotrópicos (Zhou et al., 2009).

Vários ensaios randomizados com estatinas contra placebo mostraram reduzir significativamente o risco de todas as manifestações clínicas do processo aterosclerótico. Para além disso, resultados a longo prazo de ensaios clínicos mostraram também diminuir significativamente a incidência e mortalidade total na DAC, bem como no enfarte do miocárdio (EM), em procedimentos de revascularização, no acidente vascular cerebral (AVC) e na doença vascular periférica. Estes efeitos benéficos das estatinas são independentes do género e são mais evidentes em pacientes de meia idade e idosos, tanto em prevenção primária como secundária. Devido à sua fácil administração, as estatinas mostraram uma taxa alta de *compliance* pelos pacientes (Bhindi et al., 2008).

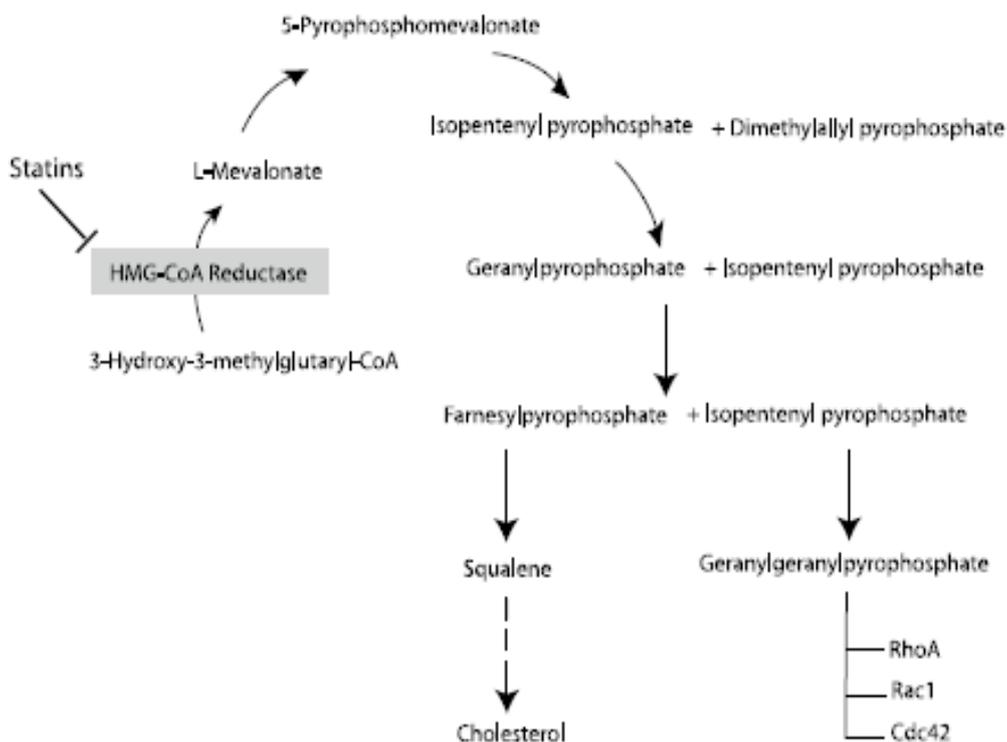
Em comparação com outros fármacos hipocolesterolémicos, as estatinas têm um melhor perfil de segurança. Os seus efeitos secundários estão bem descritos e incluem principalmente: miopatia, disfunção hepática e renal (Pasternak et al., 2002).

O benefício das estatinas na aterosclerose estende-se para lá da sua capacidade hipolipemiante. Pensa-se que há outros mecanismos que podem ajudar neste efeito, como a estabilização de placas ateroscleróticas e a redução da inflamação vascular, trombogenicidade e disfunção endotelial (Ito et al., 2006).

## **2 - Propriedades farmacocinéticas**

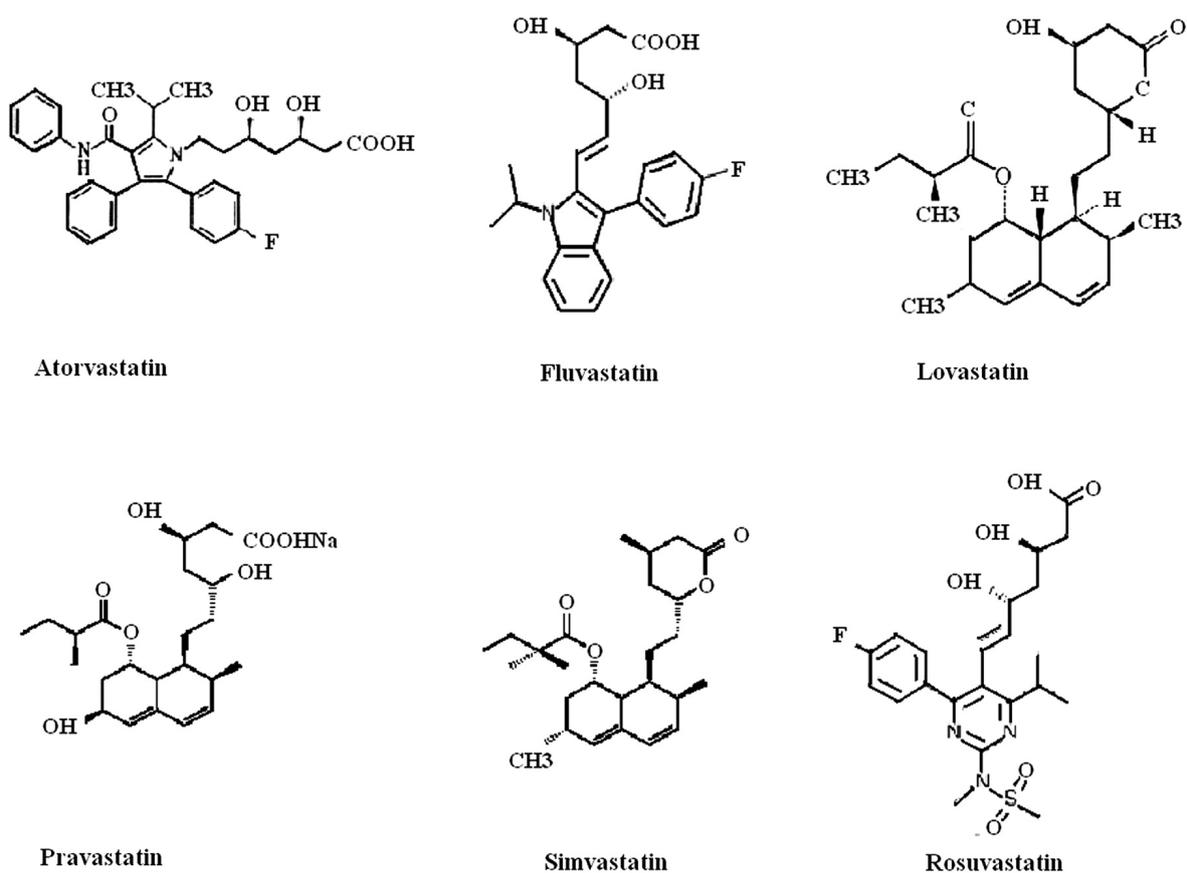
As estatinas produzem o seu efeito anti-colesterolémico ao inibir competitivamente a HMG-CoA reductase, inibindo assim a conversão de HMG-CoA em ácido L-mevalónico. Este mecanismo limita a taxa de biossíntese do colesterol, ao prevenir o acesso do substrato para os locais activos da enzima (Istvan et al., 2001). Em consequência deste mecanismo,

ocorre diminuição da síntese hepática do colesterol, aumento da regulação dos receptores LDL e aumento da *clearance* plasmática do colesterol LDL. Para além disso, ao inibir a HMG-CoA reductase, as estatinas podem também inibir a síntese de importantes isoprenóides intermediários, como farnesilpirofosfato (FPP) e geranylgeranylpirofosfato (GGPP), que provêm do ácido L-mevalónico (Goldstein et al., 1990). O GGPP e o FPP servem de importantes ligações lipídicas para a modificação pós-translacional de proteínas intracelulares, como as laminas nucleares, Ras, Rho, Rac e Rap (Van Aelst et al., 1997). Assim, é possível que, para além da diminuição do colesterol, a inibição destas proteínas intracelulares dependentes de isoprenóides pode contribuir para alguns dos efeitos biológicos das estatinas (Figura 1) (Zhou et al., 2010).



**Figura 1.** Acções biológicas dos isoprenóides. As estatinas inibem a actividade da HMG-CoA reductase e reduzem a isoprenilação de moléculas sinalizadoras intracelulares, como o RhoA, Rac1 e Cdc42. Retirado de Zhou et al. (2010)

Entre as diversas estatinas não há só diferenças estruturais, diferenças farmacocinéticas importantes também se verificam (Figura 2) (Bellosta et al., 2004). Estas são submetidas a um metabolismo de primeira passagem extensivo no fígado, em que todas, exceptuando a pravastatina, são metabolizadas pelo grupo de enzimas do citocromo P450 (CYP). No entanto, nem todas são metabolizadas pelas mesmas isoenzimas, o CYP3A4 metaboliza a lovastatina, simvastatina e atorvastatina enquanto a CYP2C9 é a principal isoenzima responsável pelo metabolismo da fluvastatina. Indutores do CYP3A4, como a rifampicina e a troglitazona, podem reduzir as concentrações plasmáticas das estatinas, enquanto que os níveis das estatinas podem ser aumentados pelos inibidores da CYP3A4, como antagonistas do cálcio, cimetidina e sumo de toranja (Bhindi et al., 2008).



**Figura 2.** Estrutura bioquímica das estatinas  
Retirado de Bhindi et al. (2008).

A cerivastatina foi retirada do mercado depois de ter sido documentado que a sua co-administração com o fibrato gemfibrozil aumentou o risco de uma potencial rabdomiólise fatal (Staffa et al., 2002). Apesar da razão exacta para o aumento deste risco não ser clara, é provável que a interferência de ambos os fármacos no metabolismo do CYP seja um mecanismo importante (Wang et al., 2002).

Outras interacções farmacocinéticas, independentes do CYP, foram também documentadas, incluindo o aumento da biodisponibilidade e toxicidade das estatinas durante a co-administração com a digoxina (Boyd et al., 2000).

As estatinas apresentam potenciais diferentes na inibição extra-hepática da HMG-CoA reductase, elas diferem na sua lipofilicidade, vida média e potencia (Illingworth et al., 2001). Estas podem ser responsáveis por algumas das diferenças observadas nos seus efeitos secundários periféricos, mas ao mesmo tempo permitem-lhes ter mais efeitos pleiotrópicos. Estatinas lipofílicas (simvastatina e fluvastatina) são consideradas mais prováveis de entrar nas células vasculares por difusão passiva do que estatinas hidrofílicas (pravastatina e rosuvastatina) (Zhou et al., 2010). No entanto, há estudos que dizem que as estatinas hidrofílicas têm efeitos pleiotrópicos semelhantes às estatinas lipofílicas, o que questiona se haverá mesmo efeitos independentes do colesterol. Há dados que sugerem que alguns dos efeitos independentes do colesterol destes agentes podem ser mediados pela inibição da HMG-CoA reductase do fígado, levando a uma redução nos níveis de isoprenóides circulantes (Corsini et al., 1999). Esta hipótese pode ajudar a explicar o facto das estatinas hidrofílicas serem capazes de exercer os seus benefícios independentes do colesterol na parede vascular sem entrar directamente nas células da parede vascular. A este respeito, a palavra “pleiotrópicos” pode não reflectir os efeitos hepáticos *versus* não hepáticos destes agentes (Zhou et al., 2010).

## **IV – Efeitos pleiotrópicos das estatinas**

### **1 - Estatinas e isoprenóides**

Ao inibir a síntese de mevalonato, as estatinas também inibem a síntese de isoprenóides intermediários importantes da via de biossíntese do colesterol, como o FPP e o GGPP (Goldstein et al., 1990). Estes intermediários são ligações lipídicas importantes para a modificação pós-translacional de várias proteínas, incluindo a subunidade- $\gamma$  da proteína G heterotrimérica, a lamina nuclear Heme-a e proteínas que se ligam à guanosina trifosfato (GTP), como o Ras e Rho (Takemoto et al., 2001). Desta forma, a isoprenilação proteica permite a ligação covalente, localização subcelular e tráfico intracelular de proteínas associadas à membrana (Van Aelst et al., 1997) .

O grupo lipofílico isoprenilado permite que estas proteínas se liguem às membranas celulares, o que na maioria das situações é um requisito essencial para a sua função biológica (Wang et al., 2008).

Membros da família GTPase Ras e Rho são importantes substratos para a modificação pós-translacional pela prenilação. Ras e Rho são pequenas proteínas ligadoras de GTP que passam do estado inactivo ligadas à guanosina difosfato (GDP) ao estado activo ligadas ao GTP (Takemoto et al., 2001). Em células endoteliais, a translocação do Ras do citoplasma para a membrana plasmática está dependente da farnesilação, enquanto que a translocação do Rho está dependente da geranylgeranilação (Takemoto et al., 2001). Estas pequenas proteínas, que se ligam ao GTP, são reguladores importantes do citoesqueleto da actina e vias de sinalização intracelular (Wang et al., 2008). As estatinas inibem a isoprenilação do Ras e Rho, levando à acumulação de Ras e Rho inactivos no citoplasma (Takemoto et al., 2001).

Cada membro da família Rho GTPase, que consistem de RhoA, Rac1 e Cdc42, têm

funções específicas em termos de proliferação, secreção, motilidade e forma celular (Wang et al., 2008). As alterações no citoesqueleto da actina induzidas pelo Rho podem afectar o transporte intracelular, tráfico membranar, estabilidade do ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) e transcrição de genes (Takemoto et al., 2001). A activação de Rho e o seu alvo, a proteína cinase associada ao Rho (ROCK), regulam a contracção do músculo liso vascular não sensível ao cálcio na hipertensão e espasmo coronário (Wang et al., 2008). De facto, dados sugerem que a inibição da isoprenilação do Rho medeia muitos dos efeitos pleiotrópicos das estatinas, não só nas paredes das células vasculares, mas também em leucócitos e no osso (Takemoto et al., 2001).

As ROCK são cinases serina/treonina, que são efectores da GTPase Rho. As estatinas podem inibir a modificação pós-translacional por isoprenilação destas proteínas, que é um passo crucial para a sua função e tráfico intracelular. Ao inibir a síntese de mevalonato, as estatinas previnem que o alvo membranar seja o Rho e a consequente activação das ROCK. As estatinas administradas em concentrações semelhantes às que são usadas para diminuir o colesterol LDL, podem inibir a isoprenilação do Rho e a actividade do Rho em humanos (Zhou et al., 2010).

Há duas vias *major* de sinalização do Rac: remodelação do citoesqueleto da actina e geração de espécies reactivas ao oxigénio (ROS). O Rac1 influencia múltiplas proteínas que remodelam o citoesqueleto, como uma proteína do síndrome Wiskott-Aldrich, proteínas activadoras da GTPase que se ligam à calmodulina e cinase activada pelo p21. O Rac1 também se liga ao p67phox e leva à activação do sistema da oxidase do dinucleótido de nicotinamida/adenina fosfato (NADPH) e consequente geração de ROS. De facto, a actividade do Rac está relacionada com a produção do ROS, e a geração do ROS pela oxidase do NADPH em resposta a factores de crescimento e citocinas inflamatórias é mediada pelo Rac (Sundaresan et al., 1996).

As estatinas inibem a actividade da oxidase do NADPH mediada pelo Rac1 e assim

reduzem a produção de ROS induzido pela angiotensina II e a hipertrofia no músculo liso e coração (Takemoto et al., 2001; Wassmann et al., 2001). A activação do Rac1 na parede vascular tem sido associada a aterosclerose, proliferação neointimal, hipertrofia cardíaca, e disfunção endotelial. O Rac1 tem múltiplos papéis em diversos processos celulares e fisiologia cardiovascular. Assim a inibição do Rac1 pode também contribuir para alguns efeitos pleiotrópicos das estatinas (Wang et al., 2008).

## **2 - Efeitos das estatinas na síntese do monóxido de azoto e no miocárdio**

O monóxido de azoto (NO) é um vasodilatador fisiológico sintetizado pelas sintetases do NO (NOS), incluindo na parede vascular pela sintetase endotelial do NO (eNOS). As principais funções biológicas do NO são: inibição da agregação plaquetar e a adesão de leucócitos, inibição da trombogénese, inibição da proliferação de células musculares lisas e supressão do stress oxidativo (Miida et al., 2004).

A função endotelial está normalmente prejudicada em pacientes com hipercolesterolemia ou aterosclerose (Egashira et al., 1993). Esta disfunção endotelial está relacionada com a diminuição da síntese ou actividade do NO derivado do endotélio (Pritchard et al., 1995).

As estatinas melhoram a disfunção endotelial ao aumentar a produção de NO. Em pacientes hipercolesterolemicos, o tratamento com estatinas atenua a vasoconstrição mediada por acetilcolina (um vasodilatador dependente do endotélio) e aumenta o fluxo sanguíneo plasmático (Egashira et al., 1993). Estes efeitos favoráveis foram observados no período das 24h de tratamento e na ausência de redução significativa do colesterol (Wassmann et al., 2003).

As estatinas podem assim aumentar a produção de NO independente da diminuição de

colesterol. Vários mecanismos foram propostos pelos dados experimentais, incluindo a sugestão de que as estatinas inactivam a via da cinase Rho/Rho e aumentam a expressão de eNOS. Este efeito pode ser revertido pela adição de GGPP, mas não de FPP, suportando esta hipótese. O aumento da expressão do eNOS é causado pela estabilização do mRNA do eNOS (Laufs et al., 1998a; 1998b). Para além disso, o mevalonato inibe a cinase 3 do fosfatidilinositol (PI3-K), uma enzima que promove a activação do Akt através da cinase 1 do fosfoinosítídeo. As estatinas diminuem o mevalonato, resultando na activação da proteína quinase Akt, que fosforila o eNOS e aumenta a produção de NO (Miida et al., 2004).

A hipertrofia cardíaca é mediada, em parte, pelo stress oxidativo do miocardio. Porque o Rac1 é preciso para a actividade da NADPH oxidase, é possível que as estatinas inibam a hipertrofia cardíaca, através de um mecanismo antioxidante envolvendo a inibição da geranilgeranilação do Rac1 (Zhou et al., 2010).

As estatinas inibem o stress oxidativo induzido pela angiotensina II e a hipertrofia cardíaca em roedores (Takemoto et al., 2001). Estudos *in vivo* mostraram uma função protectora das estatinas contra a lesão isquémica do miocardio (Lefter et al., 1999) e estudos em animais confirmaram estas descobertas em modelos normocolesterolémicos e também hipercolesterolemicos (D'Annunzio et al., 2009).

O mecanismo subjacente a este efeito protector das estatinas consiste no aumento da biodisponibilidade de NO, resultando no aumento da vasodilatação e facilitando o fluxo sanguíneo miocárdico regional em condições de hipóxia (Laufs et al., 1997). Para além disso, a produção de NO induzida por estatinas inibe o aumento da regulação de moléculas de adesão envolvidas em interacções de leucócitos-células endoteliais (Zhou et al., 2010).

Finalmente, estatinas podem também preservar o potencial da membrana mitocondrial em resposta ao stress oxidativo em monócitos de uma forma dependente do NO (Jones et al., 2003).

### **3 - Efeito das estatinas na inflamação**

A resposta inflamatória vascular é um processo complexo que leva à aterosclerose (McFarlane et al., 2002). Esta contribui para o desenvolvimento da aterosclerose desde o estágio inicial (interacção leucócito-endotélio) ao estágio final (rotura da placa) (Miida et al., 2004).

As estatinas diminuem as citocinas pro-inflamatórias e reduzem a expressão de moléculas de adesão na parede vascular. Estudos sugerem que as estatinas inibem a interacção monócito-endotélio pela inactivação do RhoA (Yoshida et al., 2001; Yoshida M., 2003). Para além disso, as estatinas diminuem o número de macrófagos e células T e reduzem a expressão de metaloproteinases de matriz (MMP) na lesão aterosclerótica (Miida et al., 2004).

A proteína C-reativa é um marcador da inflamação e factor de risco para doença cardiovascular. Dados recentes sugerem que as estatinas diminuem os níveis de proteína C-reativa em apenas 6 semanas de tratamento (McFarlane et al., 2002). As estatinas reduzem também a concentração de outras proteínas de fase aguda como a amiloide A do soro (SAA). Estes efeitos foram observados tanto em humanos hipercolesterolemicos como em animais com pouca concentração de colesterol no sangue. Assim, estes efeitos anti-inflamatórios das estatinas podem ser independentes dos seus efeitos hipolipemiantes (Miida et al., 2004).

### **4 - Estatinas e plaquetas**

As plaquetas circulantes estão associadas à formação de trombos murais no local da rotura das placas e lesão vascular. Este mecanismo é fundamental na origem de síndromes coronárias agudas (Zhou et al., 2010).

A hipercolesterolemia tem sido associada com aumentos na reactividade plaquetar. As

estatinas podem diminuir a reactividade plaquetar, através da redução dos níveis de colesterol plasmático (Zhou et al., 2010). No entanto, estudos recentes sugerem que alguns dos efeitos podem não ser dependentes do colesterol (Glynn et al., 2009).

Um dos mecanismos propostos consiste no aumento da regulação mediada pelas estatinas de eNOS nas plaquetas, o que leva a diminuição da activação plaquetar (Laufs et al., 2000).

Para além disso, as estatinas inibem a expressão do factor tecidual por macrófagos e, assim, reduzem o potencial trombótico da parede vascular (Aikawa et al., 2001).

Recentemente foi sugerido que os receptores activadores de peroxissomas proliferativos (PPARs) também podem mediar algumas das acções antiplaquetares das estatinas (Ali et al., 2009).

## **5 - Outros efeitos das estatinas**

A osteoporose é uma das doenças do osso mais comum em pessoas idosas. Estudos recentes sugerem que as estatinas têm um efeito anabólico no osso, podendo ser usadas como agentes terapêuticos para tratar osteoporose. É possível que a via do mevalonato tenha um papel importante no metabolismo esquelético. Estudos *in vitro* e em animais demonstraram que as estatinas estimulam a produção da proteína morfogenética do osso 2 (BMP-2), um potente regulador da diferenciação e actividade dos osteoblastos (Mundy et al., 1999).

Estudos *in vitro* mostraram que as estatinas podem induzir apoptose de células de leucemia mielogenoide aguda de uma forma sensível e específica. Este efeito é parcialmente causado pela disrupção do GGPP, mas não do FPP ou de outros produtos da via do mevalonato, incluindo o colesterol. Estudos clínicos futuros são necessários para investigar o possível uso das estatinas como agentes anti-cancerígenos (Wong et al., 2002), mas vários trabalhos sugerem um potencial terapêutico a este nível.

## 6 - Perspectivas futuras para utilização clínica das estatinas

O AVC isquêmico e a doença de Alzheimer (AD) são novos alvos promissores da terapêutica com estatinas. Ambas as situações estão associadas epidemiologicamente com a hipercolesterolemia. Para além disso, dados recentes sugerem que as estatinas reduzem o risco de AVC e de AD (Miida et al., 2004).

### 6.1 - Estatinas e AVC

Há 3 tipos *major* de AVC: hemorrágico, isquêmico e hemorragia subaracnoideia. A análise de alguns estudos sugeriram uma relação entre o aumento do risco de AVC não hemorrágico com o aumento das concentrações de colesterol. No entanto, esta relação não é tão forte como aquela entre a doença cardíaca isquémica e o colesterol (Miida et al., 2004).

Apesar da correlação entre níveis elevados de colesterol e doença cerebrovascular permanecer controversa, as estatinas tornaram-se uma das terapêuticas mais importantes para a prevenção e tratamento de AVCs (Zhou et al., 2010). Muitos estudos clínicos consideraram que as estatinas reduzem o AVC em 10-30% (Miida et al., 2004).

Os efeitos benéficos das estatinas no AVC isquêmico são provavelmente independente do colesterol, uma vez que estudos com outros fármacos modificadores lipídicos não tiveram sucesso na redução da incidência de AVC (Zhou et al., 2010). Este efeito é devido à redução da aterosclerose pré-cerebral e aos efeitos pleiotrópicos, como a melhoria da disfunção endotelial, estabilização da placa, inibição da agregação plaquetar e acções anti-inflamatórias (Miida et al., 2004).

## **6.2 - Estatinas e demência**

As estatinas, já muito usadas para prevenir a doença cardíaca e os AVCs, podem também reduzir, o risco de AD e de outras demências. Um estudo em pacientes com AD e outras demências (*versus* pacientes sem demências) demonstrou que quem tomava estatinas tinha 70% menor probabilidade de desenvolver demência do que outros que não tinham sido diagnosticados com concentrações elevadas de lípidos ou tomavam outro fármaco hipolipemiante. Assim, este efeito provavelmente será independente do colesterol. Suspeita-se que as estatinas aumentam a concentração do eNOS, permitindo que a microvasculatura seja mais flexível e aumente o fluxo sanguíneo (Gottlieb S., 2000).

## **V – Efeitos das estatinas na coagulação e na fibrinólise**

### **1 – Efeitos no fibrinogénio**

O fibrinogénio pode ser considerado como um factor de risco na doença cardiovascular (Krysiak et al., 2003). Níveis elevados de fibrinogénio representam um factor de risco para a DAC e a trombose, e afectam significativamente a trombogenicidade plasmática (Undas et al., 2005).

Vários estudos mostraram que em pacientes com níveis elevados de fibrinogénio o risco de DAC é semelhante ou superior aos pacientes que apresentam níveis de colesterol total aumentados. O risco de episódios coronários permanece baixo quando os níveis de fibrinogénio são baixos, mesmo que os níveis de colesterol sejam altos (Meade et al., 1986; Kannel et al., 1987). O fibrinogénio é também um factor de risco importante na mortalidade de

pacientes com claudicação intermitente (Gensini et al., 1998).

Vários estudos têm apresentado conclusões contraditórias quanto aos efeitos das estatinas no fibrinogénio. Está descrito que as estatinas aumentam, diminuem ou, na maioria dos estudos, não apresentam qualquer efeito, nos níveis de fibrinogénio plasmático (Undas et al., 2005). Estas discrepâncias podem dever-se ao facto de se usarem diferentes métodos laboratoriais para medir os níveis de fibrinogénio no plasma, como métodos imunonefelométricos ou métodos imunoturbidimétricos (Krysiak et al., 2003). Estes métodos podem apresentar resultados errados quando os níveis de triglicéridos estão aumentados (Song et al., 2001). O “*Clauss method*” parece ser o melhor para medir os níveis de fibrinogénio no plasma; no entanto, níveis elevados de produtos de degradação do fibrinogénio (PDF) podem inibir a polimerização da fibrina, reduzindo assim os níveis de fibrinogénio no plasma quando medidos por este método (Clauss et al., 1957). Há ainda outras razões que podem explicar as discrepâncias encontradas. O nível de fibrinogénio plasmáticos aumenta em (Heinrich et al., 1995; De Maat, 2001): várias doenças agudas como o EM, infecção e trauma; outras patologias como a hipertensão arterial (HTA), diabetes mellitus (DM) e deslipidémia; envelhecimento, hábitos tabágicos, obesidade; e contracepção oral. Pelo contrário, os níveis de fibrinogénio diminuem em (Heinrich et al., 1995; De Maat, 2001): vegetarianos; após consumo moderado de álcool; exercício físico; e tratamento com derivados do ácido fíbrico, antagonistas dos receptores B-adrenérgicos, ticlopidina, stanazolol, pentoxifilina, defibrotide e algumas drogas anti-inflamatórias.

Os níveis de fibrinogénio também dependem do polimorfismo do seu gene na população (De Maat, 2001) e mostram variação sazonal, o que pode também explicar as discrepâncias entre os diferentes estudos (Krysiak et al., 2003).

A acção pró-aterogénica complexa do fibrinogénio sugere que até pequenas alterações nos seus níveis podem contribuir para os benefícios cardiovasculares iniciais e tardios da terapêutica com estatinas. No entanto, é necessário a realização de mais estudos com períodos

padronizados de observação e dosagem, numa população representativa e com um método uniforme para medir os níveis de fibrinogénio (Krysiak et al., 2003), para que mais conclusivos resultados sejam obtidos.

## **2 - Efeitos no factor tecidual**

O factor tecidual (FT) é o principal iniciador fisiológico da coagulação sanguínea ao servir de co-factor ao factor VII activado (FVIIa), sem o qual é uma enzima inactiva (Morrissey, 2001).

O FT é sintetizado por estimulação ou lesão de monócitos, macrófagos e células musculares lisas e endoteliais (Rosenson et al., 1998). Depois de se ligar ao FVIIa, o FT activa os factores IX e X, assim iniciando a cascata da coagulação (Dahlback, 2000).

Estudos com simvastatina mostraram que o efeito das estatinas no FT abrange não só macrófagos e monócitos mas também outros tipos de células humanas, como células de músculo liso e células endoteliais, inibindo a expressão do FT e também a sua actividade (Eto et al., 2002).

Estudos realizados em células obtidas tanto de dadores saudáveis como de pacientes com hipercolestolemia, nos quais foram usados vários tipos de estatinas (simvastatina, fluvastatina, cerivastatina e pravastatina), mostraram redução nos níveis e actividade do FT em culturas de monócitos e macrófagos humanos, estimulados ou não por factores inflamatórios [lipopolissacarídeos (LPS)] e lipoproteínas aterogénicas (LDLs acetiladas) (Krysiak et al., 2003).

Vários estudos em animais foram efectuados para avaliar as alterações na expressão do FT em artérias, incluindo estudos em que foi administrada simvastatina e pravastatina em macacos *cynomolgus* em dieta aterogénica; cerivastatina em coelhos do tipo *Watanabe*

*Heritable Hyperlipidemic* (WHHL), um modelo de hipercolesterolemia isolada; simvastatina em ratos com déficit de apolipoproteína-E; fluvastatina em coelhos alimentados com colesterol. Estes estudos mostraram uma redução substancial na expressão do FT em lesões ateroscleróticas, em conjunto com a supressão da inflamação no ateroma, independentemente dos efeitos da redução lipídica das estatinas (Undas et al., 2005). O estudo com cerivastatina em coelhos do tipo WHHL mostrou que os efeitos da cerivastatina está relacionado não só com a diminuição do número de macrófagos na placa aterosclerótica mas também com a redução da expressão do FT nas células da membrana interna da aorta (Aikawa et al., 2001).

Estudos em humanos encontraram evidências que o FT está envolvido na acção *in vivo* das estatinas (Krysiak et al., 2003) e comprovaram efeitos idênticos aos observados nos estudos em animais (Undas et al., 2005). O estudo ATROCAP (*the Atorvastatin and Thrombogenicity of the Carotid Atherosclerotic Plaque*), no qual foi administrada atorvastatina a doses de 20 mg/dia durante 4-6 meses a 59 pacientes com estenose carotídea bilateral, mostrou redução dos níveis de antígeno FT e da actividade em homogenados de placas aterogénicas. Os resultados apresentaram uma diminuição de 29% dos níveis de antígeno FT e diminuição de 56% da actividade do FT em placas ateroscleróticas removidas por endarterectomia em comparação com resultados obtidos em pacientes sujeitos a placebo (Cortellaro et al., 2002).

Outro estudo em seres humanos comprovaram o efeito das estatinas na redução da actividade do FT e nos níveis de antígeno do FT. A administração de 20 mg/dia de Simvastatina durante 8 semanas em 24 pacientes com hipercolesterolemia poligénica, apresentou uma redução acentuada na actividade do FT e nos níveis de antígeno do FT (em 61% e 68%, respectivamente) em monócitos estimulados (Ferro et al., 1997). Um efeito semelhante na actividade do FT foi produzido com doses baixas de simvastatina (10 mg/dia) tanto em monócitos não estimulados como estimulados por LPS de 15 pacientes que tinham sido submetidos a transplante cardíaco (Holschermann et al., 2000).

O estudos até hoje realizados sobre o efeito das estatinas no FT apontam para uma diminuição da expressão do FT em monócitos e vários tipos de células vasculares (Undas et al., 2005).

### **3- Efeitos no factor VII**

Alguns estudos clínicos mostraram que a actividade coagulante do factor VII (FVII) no plasma é um factor de risco para DAC (Krysiak et al., 2003).

Em pacientes com historia de EM foi encontrada alta actividade coagulante do FVII e pacientes com DAC instável e EM apresentavam uma elevada razão FVII funcionante/antigénio do FVII (Gensini et al., 1998).

Os estudos que avaliaram o efeito das estatinas no FVII revelaram diferentes resultados, mas na maioria deles as estatinas apresentavam um efeito benéfico neste factor (Krysiak et al., 2003).

Em pacientes hipercolesterolemicos os níveis de antigénio e a actividade coagulante do FVII diminuíram após 12 semanas de tratamento com 10 mg/dia de atorvastatina e após 4 a 6 semanas de tratamento com 20 mg/dia de atorvastatina. Estas alterações não se encontravam relacionadas com os efeitos hipolipemiantes deste fármaco (Undas et al., 2005). Em pacientes com historia de EM a pravastatina reduziu os níveis de FVII. Em pacientes com hiperlipoproteinemia tipo IIa, IIb e IV a atorvastatina diminuiu os níveis de antigénio e/ou actividade coagulante do FVII. A administração de simvastatina em pacientes com hiperlipoproteinemia tipo II primária, de cerivastatina em pacientes com hiperlipidemia primária mista, de simvastatina e fluvastatina em pacientes com dislipidemia diabética reduziu a actividade coagulante do FVII (Krysiak et al., 2003).

Contudo, há dados que mostram que a simvastatina, a pravastatina e a fluvastatina não

têm efeito nos níveis e/ou actividade coagulante do FVII (Undas et al., 2005). Outros estudos mostraram que a simvastatina produz uma diminuição insignificante na actividade coagulante do FVII em pacientes com hiperlipoproteinemia tipo IIa e em pacientes com risco aumentado de DAC, a simvastatina diminuiu também os níveis de antigénio do FVII (Bo et al., 1991; Mitropoulos et al., 1997).

Outros efeitos contraditórios foram observados. Nalguns estudos, simvastatina, fluvastatina e pravastatina não tiveram efeito na actividade do FVIIa. Contudo, um estudo recente descobriu que as estatinas reduziram a actividade do FVIIa em pacientes com hipercolesterolemia (Krysiak et al., 2003).

Como o antigénio do FVII, a actividade coagulante do FVII e a actividade do FVIIa correlacionam-se com os níveis de triglicédeos, ácidos gordos livres e colesterol (38,61), as discrepâncias entre os estudos pode resultar de diferentes critérios de inclusão e diferentes efeitos das estatinas no perfil lipídico (Krysiak et al., 2003).

Mais estudos, usando ensaios específicos para quantificar os níveis de FVIIa no sangue circulante, são necessários para explicar se as estatinas podem alterar actividade do complexo iniciador TF-FVIIa não só pela expressão do FT mas também pela formação ou actividade do FVIIa (Undas et al., 2005).

#### **4 – Efeitos no inibidor da via do factor tecidual**

O inibidor da via do factor tecidual (TFPI) apresenta um potencial anticoagulante marcado. Este está envolvido na regulação da coagulação induzida pelo FT (Hansen et al., 1995). O TFPI é o único inibidor fisiológico do complexo TF-FVIIa que também neutraliza a actividade catalítica do factor X activado. 80% do TFPI encontra-se ligado a LDL, o que sugere que as alterações induzidas por fármacos no perfil lipídico podem afectar a actividade

deste inibidor (Undas et al., 2005).

Como a actividade anticoagulante do TFPI está relacionada com a fracção livre de TFPI, este facto parece ter um papel importante nos efeitos anticoagulantes das estatinas (Krysiak et al., 2003). No entanto, resultados contraditórios têm sido relatados. Lovastatina; Fluvastatina; Simvastatina e atorvastatina mostraram diminuir a actividade do TFPI, causado pela redução nos complexos LDL-TFPI, e níveis totais de TFPI sem qualquer alteração no TFPI livre em indivíduos hiperlipidemicos (Undas et al., 2005).

A inibição da HMG-CoA reductase promove a redução de antigénio do TFPI, o que estará muito provavelmente ligado à normalização dos distúrbios funcionais do endotélio, e não tanto à supressão do potencial anticoagulante do *pool* endotelial do TFPI livre (Hansen et al., 1995).

A informação disponível indica que não há alterações significativas nos níveis/actividade do TFPI durante a terapeutica com estatinas (Undas et al., 2005).

## **5 – Efeitos sobre a trombina**

A trombina, uma proteína do tipo serina protease, tem como principal função converter fibrinogénio em fibrina, realizando um papel fundamental no processo de coagulação. A trombina é produzida da protrombina, que é essencialmente o estado inactivo desta proteína (Krysiak et al., 2003).

Para avaliar os efeitos das estatinas na trombina a maioria dos estudos focaram os seguintes parâmetros: Fragmento da protrombina (F1+2); Fibrinopeptídeo A (FPA); e Complexo trombina-antitrombina III (TAT) (Krysiak et al., 2003).

O F1+2 é um polipeptídeo que é clivado da protrombina quando esta é convertida em trombina. O FPA resulta da clivagem do fibrinogénio pela trombina. O F1+2 reflecte o ultimo

passo da formação da fibrina, enquanto que o FPA reflecte a actividade da trombina. A trombina livre é inactivada quando se liga ao complexo TAT, sendo os níveis deste um marcador da activação da coagulação (Dahlback, 2000).

A terapêutica com estatinas resulta na diminuição da formação de trombina. Um estudo de 16 pacientes com EM prévios e níveis de colesterol elevados tratados com pravastatina (40 mg/dia), mostrou que a correcção do aumento do potencial trombogénico pode ser importante para benefícios clínicos nos primeiros meses após um episódio coronário agudo (Undas et al., 2005).

De todas as estatinas, a simvastatina e a pravastatina são as melhores estudadas em termos dos efeitos na trombina. Vários estudos mostraram que a simvastatina diminuiu os níveis de F1+2, TAT e FPA no sangue venoso de pacientes com hipercolesterolemia (Krysiak et al., 2003). Foi também documentado que a simvastatina inibiu a conversão da protrombina em trombina, o que foi acompanhado por aumento do tempo de hemorragia em pacientes com DAC e níveis de colesterol alto *borderline* que se encontravam a tomar baixas doses de aspirina (75 mg/dia) (Musial et al., 2001).

Há vários estudos sobre os efeitos da pravastatina na trombina. Num estudo em que foi administrada pravastatina durante 3 meses em baixas doses (10 mg/dia) em pacientes com hipercolesterolemia houve uma diminuição nos níveis dos complexos TAT e FPA (Wada et al., 1993). Noutro estudo em que este fármaco foi administrado durante 8 semanas numa dose maior (40 mg/dia) foi observado um efeito semelhante nos níveis de F1+2 em pacientes com hipercolesterolemia (Cipollone et al., 2002).

A administração de 15 mg/dia de pravastatina (mínimo durante 1 mês) inibiu a formação de trombina dependente de plaquetas, um parâmetro que se encontra aumentado em pacientes com hipercolesterolemia e hiperlipidemia mista. O efeito da pravastatina na formação de trombina resultou da melhoria da desregulação plaquetas-factores de coagulação porque a actividade e agregação das plaquetas não sofreu alterações nos pacientes, nem antes

nem depois do tratamento (Aoki et al., 1997).

Um tratamento de 16 semanas no qual foi administrado 20 mg/dia de pravastatina durante 8 semanas e 40 mg/dia de pravastatina durante as outra 8 semanas mostrou diminuição nos níveis de F1+2 e TAT, que estavam aumentados em pacientes com história de EM. O efeito favorável das estatinas na coagulação foi observado independentemente da gravidade das lesões ateroscleróticas nas artérias carótídeas (Di Garbo et al., 2000).

O tratamento com cerivastatina, simvastatina, atorvastatina, pravastatina e fluvastatina, durante 12 semanas, produziu um efeito inibitório na formação de trombina dependente de plaquetas em pacientes com hipercolesterolemia (Puccetti et al., 1999, 2001).

Alguns estudos sugerem que nem todas as estatinas produzem o mesmo efeito na formação de trombina e que este efeito pode ser diferente entre pacientes. 3 meses de tratamento com atorvastatina, simvastatina ou pravastatina revelou uma diminuição significativa nos níveis dos marcadores plasmáticos da trombina no sangue venoso periférico. No entanto, as estatinas tiveram efeitos diferentes na formação de trombina. A Simvastatina administrada a 40 mg/dia durante 3 meses inibiu a formação de trombina e a atorvastatina administrada a 10 mg/dia inibiu insignificamente a formação de trombina. Enquanto que a pravastatina administrada a 40 mg/dia não apresentou qualquer efeito (Joukhadar et al., 2001).

Deve ser referido que o papel da trombina na acção das estatinas na coagulação pode depender do sexo do paciente e tipo de estatina. Num estudo em que foi administrada Simvastatina 20-40 mg/dia durante 6 meses houve inibição da formação de trombina apenas em mulheres (Dangas et al., 1999).

Foi demonstrado que o efeito das estatinas na formação de trombina resulta de dois mecanismos. Por um lado da inibição da formação da trombina dependente de plaquetas, mas também da inibição da expressão do FT. Esta afirmação baseia-se no facto de que quando o sistema de coagulação é activado *in vitro* por monócitos estimulados com LPS, o efeito da simvastatina nos níveis de F1+2 (uma diminuição proporcional à dose) correlaciona-se com o

efeito inibitório do fármaco na expressão do FT (75), e também no facto de que a cerivastatina diminui os níveis de FT nos monócitos em que os níveis de FT estão aumentados na presença de plaquetas, o que indica uma interacção entre plaquetas e o FT na regulação da formação de trombina (Krysiak et al., 2003).

Num estudo em que foi administrada simvastatina 20 mg/dia durante 3 meses em pacientes com DAC avançada e níveis altos *borderline* de colesterol sugeriu que o atraso e redução da activação da protrombina é acompanhada por alterações na actividade de outros factores de coagulação cujas funções são fisiologicamente reguladas pela trombina. Estas alterações incluem: diminuição da formação de cadeias leves e pesadas de factor V activado; diminuição da activação do factor XIII; e inibição da proteólise do fibrinogéneo em fibrina (níveis reduzidos de FPA e fibrinopeptídeo B (FPB)) (Undas et al., 2001). Isto suporta o conceito que as estatinas, por influenciarem a formação de trombina e a sua actividade, afectam a homeostasia, o que pode produzir efeitos clínicos favoráveis (Krysiak et al., 2003).

Uma vez que a trombina estimula vários processos aterogénicos, incluindo a migração/proliferação celular, tráfico de leucócitos e inflamação, é possível especular que o efeito das estatinas na trombina passa não só pela redução na formação da trombina mas pode também inibir a aterosclerose por vários mecanismos indirectos, como alterações na sinalização da trombina pela proteína G ligada a receptores activados por proteases (PARs) (Undas et al., 2005).

A activação do PAR-1 (receptor 1 da trombina activado por proteases), através de várias vias de sinalização, incluindo as proteínas isopreniladas Rho, resulta não só em alterações pós-transcricionais mas também em alterações na transcrição de alguns genes (Minami et al., 2004). Por exemplo, o aumento da expressão do FT pela trombina, como documentado por vários investigadores, pode estar reduzido como resultado da diminuição, induzida pelas estatinas, na formação de trombina em adição à inibição da isoprenilação de sinalizadores intermediários envolvidos na função do PAR-1 (Undas et al., 2005).

Foi proposta a hipótese de que este mecanismo relacionado com o PAR-1 tem particular importância na expressão dos efeitos anti-trombóticos das estatinas. No entanto, o efeito anti-trombóticos das estatinas através da activação do PAR-1 nas plaquetas e células vasculares, bem como nas vias de sinalização e transcrição da trombina, ainda não estão totalmente estabelecidos (Undas et al., 2005).

## **6 - Efeitos na fibrinólise**

Os marcadores mais importantes da actividade fibrinolítica são os níveis do inibidor do activador do plasminogénio 1 (PAI-1) e do activador do plasminogénio tecidual (tPA), razão pela qual têm sido usados para avaliar o efeito das estatinas na fibrinólise (Krysiak et al., 2003).

Indivíduos com actividade plasmática aumentada de PAI-1 têm maior risco para doença cardiovascular como DAC, enfarte agudo do miocárdio (EAM), reestenose pós-angioplastia coronária, doença vascular periférica (Nordt et al., 2000). O antigénio tPA está associado a risco de EM e AVC (Ridker et al., 1993,1994).

Estudos *in vitro* revelaram que a atorvastatina, cerivastina, fluvastatina, lovastatina e simvastatina mas não a pravastatina, diminuíram a produção de PAI-1 em alguns tipos de células endoteliais e de músculo liso, em células humanas, mas também aumentaram a produção de tPA em células musculares lisas (Wiesbauer et al., 2002). Noutro estudo, a fluvastatina não alterou os níveis de PAI-1 no endotélio coronário (Mueck et al., 2001). Assim, pode ser excluído que as estatinas têm efeitos diferentes nas células endoteliais de diferentes vasos sanguíneos. As concentrações das estatinas usadas nestes estudos *in vitro* foram na maioria dos casos superiores às concentrações plasmáticas de pacientes tratados com estes fármacos. O efeito das estatinas nas PAI-1 e tPA parece ser clinicamente relevante,

no entanto o mecanismo das alterações induzidas pelas estatinas na síntese PAI-1 e tPA ainda não é conhecido (Krysiak et al., 2003).

Ao interpretar estudos em humanos devemos ter em atenção vários factores. Os estudos clínicos acerca do papel das estatinas na regulação da fibrinólise não são tão esclarecedores como os estudos *in vitro*, há vários factores que podem influenciar os resultados dos estudos clínicos acerca do efeito das estatinas ao nível e actividade do PAI-1 e tPA. As diferenças entre os estudos ou o facto de que os marcadores periféricos circulantes da fibrinólise não serem bons marcadores da fibrinólise local podem ser responsáveis pelos efeitos mais frustres ou mesmo contraditórios observados nos estudos clínicos (Krysiak et al., 2003).

Os efeitos das estatinas na fibrinólise podem ser alterados por vários factores como citocinas [interleucina -1, factor de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )], factores de crescimento [como o factor de crescimento transformador  $\beta$  1 (TGF-1 $\beta$ )] e hormonas (actividade do sistema renina-angiotensina). Para além disso, os níveis de PAI-1 também estão relacionados com os níveis de triglicéridos, LDL e glicose oxidados no plasma, resistência à insulina e obesidade (Isaacsohn et al., 1994; Juhan-Vague et al., 2000; Tsikouris et al., 2002; Seljeflot et al., 2002).

A morfologia da placa aterosclerótica também pode ter impacto nos resultados clínicos. Estudos *in vitro* revelaram que os efeitos da atorvastatina na síntese do PAI-1 só foram observados nos estádios iniciais da diferenciação monócitos/macrófagos (Lopez et al., 2001).

Um estudo com pravastatina produziu efeitos semelhantes no PAI-1 e tPA, tanto em mulheres como em homens (Dangas et al., 1999). O sexo dos pacientes parece ter pouca importância apesar da associação bem documentada entre estrogénios e o sistema fibrinolítico (Tsikouris et al., 2002).

Quanto ao tipo de estatinas, um estudo mostrou que a atorvastatina produziu um efeito

mais forte no antigénio do tPA e na sua actividade do que a simvastatina (Seljeflot et al., 2002a; 2002b); no entanto, outros dados mostraram que a substituição de simvastatina por atorvastatina em pacientes com hipercolesterolemia primária não afectou os níveis plasmáticos de PAI-1, o que sugere que ambas as drogas produzem efeitos semelhantes (Ito MK, 2001). São necessários mais estudos para avaliar esta questão.

A dose de estatinas administrada também parece influenciar os resultados obtidos. Foi documentado que eram necessários 40 mg/dia de pravastatina para produzir efeito na actividade do antigénio do tPA e PAI-1 (enquanto que 20 mg/dia não eram suficientes) (Krysiak et al., 2003).

A duração do tratamento pode influenciar os efeitos clínicos das estatinas nos marcadores da fibronólise. Estudos *in vitro* mostraram que as estatinas afectavam a produção de tPA e PAI-1 dependendo do tempo (Krysiak et al., 2003). Em estudos clínicos que apresentavam tratamentos de curto período, o efeito das estatinas no tPA e PAI-1 foi pequeno. Por exemplo, a simvastatina administrada durante 8 semanas diminuía os níveis de antigénio do PAI-1 apenas quando era acompanhada por terapia hormonal de substituição concomitante (Sbarouni et al., 2000). A lovastatina administrada durante 8 semanas diminuiu insignificativamente os níveis de antigénio tPA e PAI-1 (Zambrana et al., 1997). A fluvastatina administrada durante 4 ou 8 semanas e a pravastatina administrada durante 6 semanas não afectaram o PAI-1 nem o tPA (Ambrosi et al., 2000; Lin et al., 2000; Newby et al., 2002). Em estudos clínicos que apresentavam tratamentos de longo período, o efeito das estatinas no PAI-1 e tPA eram normalmente mais pronunciadas. Seis meses de tratamento com pravastatina reduziu tanto os níveis de antigénio de PAI-1 e de tPA em pacientes com ou sem DAC (Dangas et al., 1999; Dangas et al., 2000). Vinte semanas de tratamento com fluvastatina diminuiu significativamente os níveis de antigénio tPA em pacientes com DAC e leve/moderada hipercolesterolemia (Bevilacqua et al., 1997). Vinte e quatro semanas de tratamento com lovastatina diminuíram significativamente os níveis de antigénio PAI-1 em

doentes com hipercolesterolemia, com ou sem risco de apresentar DAC (Isaacsohn et al., 1994). 1 ano de tratamento com atorvastatina ou simvastatina aumentou a actividade do tPA e diminuiu insignificativamente a actividade do PAI-1 em pacientes com DAC (Seljeflot et al., 2002a; 2002b). Se esta hipótese é verdadeira as estatinas devem ser administradas por um período mínimo de tempo para se observar todo o seu efeito na prevenção primária e secundária de eventos coronários agudos (Krysiak et al., 2003).

Há variações circadianas na actividade do sistema fibrinolítico, tanto os níveis de tPA como de PAI-1 mostram um ritmo circadiano. Os antigenos do PAI-1 e tPA alcançam os seus picos mais altos de manhã e os seus valores mais baixos à tarde. Por outro lado, a actividade do tPA é maior pela tarde e menor de manhã. Esta relação deve ser considerada, mas não há estudos que permitam tirar conclusões (Krysiak et al., 2003).

Existem outros marcadores fibrinolíticos como o índice da actividade fibrinolítica (FAI), d-dímeros, plasminogénio ou  $\alpha$ 2-antiplasmina, que são possíveis factores de risco cardiovasculares. No entanto, muito menos é conhecido sobre a influência das estatinas nestes parâmetros (Krysiak et al., 2003).

Em pacientes hiperlipidémicos com DAC, o FAI aumentou 136% depois de 3 meses de tratamento com 10 mg/dia de atorvastatina (Atalar et al., 2002). Em pacientes em diálise peritoneal o FAI aumentou 30,6% após tratamento com simvastatina 10 mg/dia (Malyszko et al., 2001).

Estudos relacionados com os níveis de d-dímeros apresentaram resultados pouco esclarecedores. Após a administração de simvastatina (40 mg/dia) durante 8 semanas os níveis de D-dimeros diminuíram 26,3% (Lin et al., 2000) e após a administração de pravastatina (10 mg/dia) durante 3 semanas diminuíram 50% (Wada et al., 1993). No entanto, noutros estudos a administração de estatinas provocou um aumento de aproximadamente 46% nos níveis de d-dímeros (Seljeflot et al., 2002). Existem outros estudos nos quais as estatinas não tiveram efeito nos níveis de d-dímeros (Dangas et al., 1999; Joukhadar et al., 2001).

Estudos com lovastatina, atorvastatina e simvastatina não afectaram os níveis de plasminogénio nem de  $\alpha$ 2-antiplasmina (Mayer et al., 1992; Zambrana et al., 1997; Bo et al., 2001).

Os fracos efeitos das estatinas nalguns estudos podem ser explicados pelo facto do sangue periférico não ser um bom material para avaliar a fibrinólise local. Mesmo efeitos fortes das estatinas na fibrinólise podem não ser observados quando o sangue periférico é avaliado. No entanto, até pequenos efeitos das estatinas na fibrinólise podem produzir um efeito benéfico para prevenir a progressão da DAC e o desenvolvimento de eventos cardiovasculares agudos (Krysiak et al., 2003).

## **VI – Interações das estatinas com anticoagulantes e anti-agregantes plaquetares**

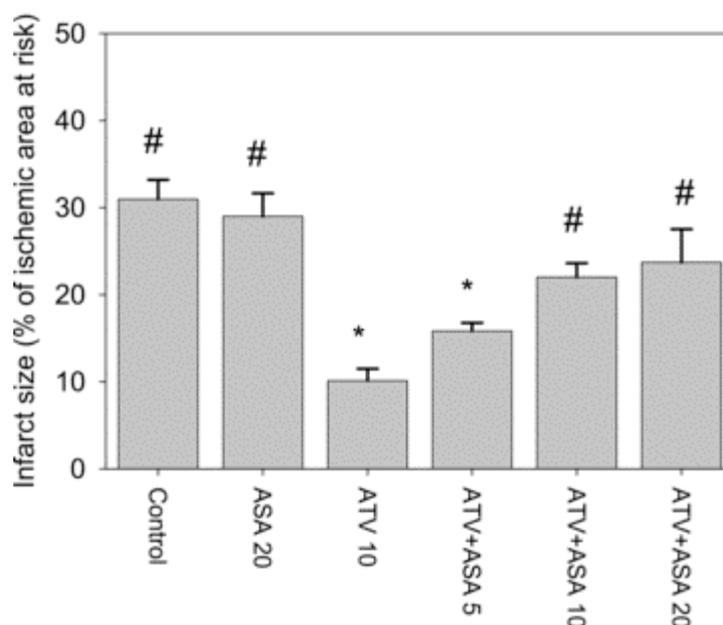
### **1 – Interação entre estatinas e aspirina, dipiridamol e/ou cilostazol**

Foi mostrado que a atorvastatina aumenta a actividade da sintetase indutível do monóxido de azoto (iNOS), que activa a cicloxigenase (COX) - 2 por S-nitrosilação (Atar et al., 2006). A atorvastatina também aumenta a expressão de COX-2 e outras enzimas da via de síntese das prostaglandinas, como a fosfolipase A2 citosólica (cPLA2) (uma enzima que forma ácido araquidónico a partir de fosfolípidos) (Birnbaum et al., 2005; Atar et al., 2006), prostaciclina sintase, e prostaglandina E2 sintase (Birnbaum et al., 2005). A inibição das enzimas atrás mencionadas diminui o efeito limitante do tamanho do enfarte pelas estatinas, indicando que a regulação destas proteínas chave é importante para a cardioprotecção contra lesões de isquemia e reperfusão (Figura 3) (Ye et al., 2010).



das estatinas (Birnbaum et al., 2005; Atar et al., 2006; Birnbaum et al., 2007).

A aspirina, administrada nas doses de 5-20mg/Kg, por via intravenosa, em ratos, mesmo antes da reperfusão, atenuou os efeitos da atorvastatina administrada 3 dias antes do tratamento, de uma forma dependente da dose (Figura 4) (Birnbaum et al., 2007).



**Figura 4.** Tamanho do enfarte do miocárdio em ratos, apresentado na percentagem da área em risco. ATV – Atorvastatina; ASA – Ácido acetilsalicílico (aspirina). Retirado de Ye et al. (2010).

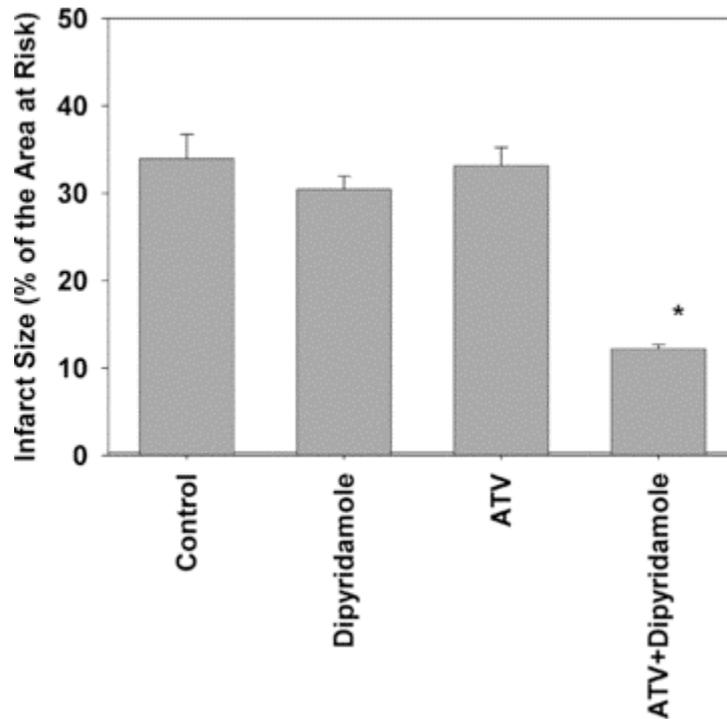
O mecanismo desta interação deve-se ao facto de que a COX-2 ser inactivada quando acetilada ou S-nitrosilada pela combinação de aspirina com atorvastatina (Birnbaum et al., 2007). A aspirina provoca a acetilação da COX-2, o que leva a uma alteração da formação de prostaglandinas H2 sintase (PGH2) (o precursor das prostaglandinas), para a produção de ácido 15-R-hidroxi-eicosatetraenoico (15-R-HETE), que é convertido em 15-epi-lipoxina A4 (um potente inibidor anti-inflamatório) pela 5-lipoxigenase. A atorvastatina aumenta a produção de 15-epi-lipoxina A4 ao aumentar a s-nitrosilação da COX-2 (Birnbaum et al., 2007).

Estes resultados sugerem que o efeito anti-inflamatório das estatinas pode estar comprometido pela aspirina. Esta potencial reacção adversa deve ser mais explorada num

quadro clínico, uma vez que a combinação de estatinas com aspirina é comumente usada (Ye et al., 2010).

O dipiridamol é um antiagregante plaquetar que tem sido usado na prevenção secundária do AVC isquémico e do acidente isquémico transitório, sem provas cabais da sua eficácia. Este aumenta as concentrações extra-celulares de adenosina ao inibir a recaptção celular de adenosina em plaquetas, glóbulos vermelhos e células endoteliais (Taniguchi et al., 2004; Schaper et al., 2005).

Há dados que mostram que o dipiridamol sozinho não reduz o tamanho do enfarte do miocárdio mas, em vez disso, potencia-o (Suzuki et al., 1998). Num estudo, três dias de tratamento prévio com doses orais de atorvastatina (2 mg/Kg/dia) ou dipiridamol (6 mg/Kg/dia) administrados isoladamente não tiveram efeito no tamanho do enfarte do miocárdio no rato. No entanto, a sua combinação resultou numa significativa protecção miocárdica (Figura 5). Pode-se explicar este resultado pelo facto da atorvastatina aumentar a produção de adenosina e o dipiridamol prevenir a sua recaptção. Isto faz com que quando administrados em conjunto, estes agentes tenham um efeito sinérgico na limitação do tamanho do EM. O efeito limitante do tamanho do enfarte da combinação dipiridamol-atorvastatina foi atenuado por aminofilina, um bloqueador inespecífico dos receptores da adenosina (Shinmura et al., 2003).



**Figura 5.** Tamanho do enfarte do miocárdio em ratos, apresentado na percentagem da área em risco. ATV – Atorvastatina. Retirado de Ye et al. (2010).

A fosforilação de Akt e eNOS é essencial para os efeitos limitantes do tamanho do enfarte pelas estatinas. Este estudo mostrou que a combinação atorvastatina-dipiridamol aumenta significativamente os níveis miocárdicos de P-Akt (Ser 473) e P-eNOS (Ser 1177), que não foram evidentes depois do tratamento com baixas doses de atorvastatina ou dipiridamol isolados (Shinmura et al., 2003).

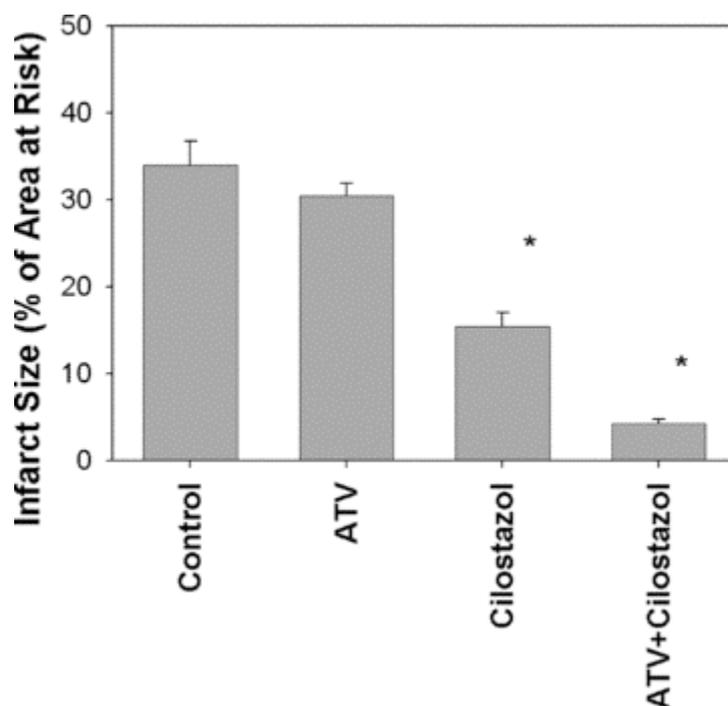
Foram também estudados os efeitos limitantes do tamanho do enfarte administrando drogas isoladamente ou em conjunto (em doses altas ou baixas), iniciadas depois da oclusão da artéria coronária no rato (Ye et al., 2010). A simvastatina sozinha limitou o tamanho do enfarte; doses baixas e altas de aspirina sozinha não tiveram efeito no tamanho do enfarte, enquanto que o dipiridamol sozinho ou com baixas doses de aspirina reduziu significativamente o tamanho do enfarte; baixas doses de aspirina não atenuaram o efeito da simvastatina, mas altas doses de aspirina bloquearam completamente o efeito da simvastatina (Ye et al., 2010).

A combinação de dipiridamol com baixas doses de aspirina e simvastatina resultou na maior redução do tamanho do enfarte. Assim, adicionar baixas doses de dipiridamol ao regime antiplaquetário pode ter efeitos protectores favoráveis contra lesões de isquemia e reperfusão, especialmente em pacientes recebendo tratamento com estatinas (Ye et al., 2010).

A combinação deve ser testada num quadro clínico de síndromes coronárias agudas, EM com elevação ST e AVCs (Ye et al., 2010).

O cilostazol é um inibidor da fosfodiesterase III. Este fármaco aumenta o adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (cAMP) intercelular, o que vai activar a proteína cinase A (PKA), que por sua vez activa o eNOS, dando-lhe assim propriedades antiplaquetares e vasodilatadoras. Para além disso, o cilostazol aumenta as concentrações intersticiais de adenosina ao inibir a recaptção de adenosina pelas células e activa o Akt e a eNOS, podendo assim proteger contra lesões de isquemia e reperfusão (Hashimoto et al., 2006).

As estatinas para alcançar cardioprotecção durante isquemia prolongada necessitam de ser administradas em doses orais altas (Birnbaum et al., 2003). Um estudo mostrou que baixas doses de atorvastatina (2 mg/Kg/dia) em combinação com cilostazol (20mg/Kg/dia) (Figura 6) tem efeito sinérgico no tamanho do EM no rato. Para além disso, este estudo revelou que baixas doses de atorvastatina potencia o aumento induzido pelo cilostazol nos níveis miocárdicos da actividade do PKA, adenosina, P-Akt (Ser 473), P-eNOS (Ser 1177), e P-eNOS (Ser633) (Manickavasagam et al., 2007). Assim, adicionar cilostazol a pacientes a receber tratamento com estatinas (tanto em combinação com baixas doses de aspirina sozinha ou com tienopiridinas) deve ser estudado em contexto clínico (Ye et al., 2010).



**Figura 6.** Tamanho do enfarte do miocárdio em ratos, apresentado na percentagem da área em risco. ATV – Atorvastatina.

Retirado de Ye et al., (2010).

Em humanos, o efeito das estatinas na limitação do tamanho do EM está dependente do eNOS e iNOS. Assim, antes de tirar conclusões dos resultados apresentados é preciso ter em conta que os ratos usados não apresentavam aterosclerose e que, a actividade vascular e miocárdica do eNOS diminui com a idade, DM ou aterosclerose avançada, co-morbilidades estas que estão muito frequentemente presentes em pacientes a tomar estas combinações de fármacos (Ratajczak et al., 2003; Ye et al., 2010). É incerto que o cilostazol, o dipiridamol e/ou a aspirina alterarem o efeito limitante do tamanho do EM pelas estatinas num cenário clínico, uma vez que o envelhecimento e a paragem cardíaca diminuem a actividade das NOS (Ratajczak et al., 2003). No mesmo cenário, as plaquetas têm um papel importante na indução do EM, reperfusão e EM recorrente. A protecção do miocárdio pelos efeitos dos fármacos antiplaquetares na actividade das plaquetas e formação de trombos não foi testada nos modelos animais presentes. Isto porque o EM foi induzido por compressão mecânica da artéria coronária, o que impede que a formação de coágulos sanguíneos ou a agregação de plaquetas tenham papel no EM (Ye et al., 2010).

Em pacientes com síndrome coronário agudo (SCA) e/ou EM com elevação de ST, estudos clínicos ainda não determinaram os efeitos de dipiridamol combinado com estatinas. Os efeitos do cilostazol no EM, especialmente na relação com terapêutica concomitante com estatinas, ainda não foram determinados. Também são necessários estudos semelhantes para a determinação dos efeitos do cilostazol em pacientes com SCA e/ou EM com elevação de ST, que estão a receber tratamento com estatinas. Mais estudos devem ser feitos para caracterizar como as combinações dos vários agentes antiplaquetares com estatinas afectam os resultados clínicos em pacientes com eventos isquémicos agudos, incluindo EM com elevação de ST, EM sem elevação de ST e AVC isquémico agudo (Ye et al., 2010).

## **2 - Interação entre estatinas e clopidogrel**

O clopidogrel inibe irreversivelmente o receptor de adenosina difosfato (ADP) P2Y<sub>12</sub> nas plaquetas, resultando no bloqueio da activação e agregação de plaquetas mediado pelo ADP. O clopidogrel é um pro-fármaco inactivo que é metabolizado no fígado formando metabolitos activos (15%) e inactivos (Bhindi et al., 2008).

O clopidogrel é usualmente usado para um número de indicações como no quadro de doença cardiovascular, tanto aguda como crónica. Em pacientes com angina estável, o clopidogrel pode ser administrado sozinho. É também administrado no EAM, em pacientes que foram submetidos a cateterização cardíaca diagnóstica, para aqueles que têm intervenção coronária percutânea (PCI) planeada e em pacientes com angina instável (Bhindi et al., 2008).

*In vivo* o clopidogrel requer bioactivação por CYP3A4 para a sua actividade antiplaquetária. Porque a lovastatina, simvastatina e atorvastatina são metabolizados primariamente pelo CYP3A4 foi então sugerido que estas estatinas podem atenuar o efeito antiplaquetário do clopidogrel. No entanto, estudos mais recentes não encontraram quaisquer

efeitos adversos na actividade plaquetar ou resultados clínicos relevantes (Ye et al., 2010).

O clopidogrel e as estatinas são ambos metabolizados pelas enzimas CYP no fígado. O CYP3A4 e 3A5 são os metabolizadores mais activos do clopidogrel. O clopidogrel é activado na sua forma oxidada e as estatinas são largamente inactivadas. Uma vez que estes fármacos são muito usadas em conjunto, e face à possibilidade de uma interacção farmacocinética significativa, vários estudos foram feitos para avaliar os possíveis efeitos de tal interacção (Bhindi et al., 2008).

Num estudo com 44 pacientes em que foram administrados inicialmente 300 mg de clopidogrel seguidos de 75 mg diários e destes 19 receberam atorvastatina [10 mg/dia (7 pacientes), 20 mg/dia (7 pacientes), 40 mg/dia (5 pacientes)], 9 receberam pravastatina (40 mg/dia) e 16 pacientes nenhuma estatina. A estatina lipofílica, a atorvastatina, reduziu significativamente a inibição da agregação plaquetar induzida pelo clopidogrel, de uma forma dependente da dose em 24h. Este efeito não se revelou na estatina hidrofílica, a pravastatina. Segundo este estudo o possível mecanismo desta inibição é o efeito competitivo da estatina lipofílica no CYP3A4, que converte compostos lipofílicos nos seus produtos hidrofílicos para facilitar a excreção na urina (Lau et al 2003).

Noutro estudo com 47 pacientes foi também documentado que a atorvastatina apresenta um efeito inibitório significativo na actividade antiplaquetar do clopidogrel 5h depois da administração de 300 mg deste fármaco. Este efeito inibitório também foi visto 48h depois, mas a extensão do efeito estava reduzido (Neubauer et al., 2003). Contudo, um outro estudo sugeriu não haver efeito significativo na função plaquetar. Neste estudo foi administrado clopidogrel (375 mg de dose inicial e depois 75 mg/dia) e 10 mg de atorvastatina ou 40 mg de pravastatina a pacientes hipercolesterolemicos que tinham sido submetidos a implantação de prótese coronária (Mitsios et al., 2004). A dose de atorvastatina usada neste estudo, contudo, era muito mais baixa que a usado noutros estudos e na prática clínica, e não era suficiente para detectar uma diferença entre a pravastatina e a atorvastatina

(Bhindi et al., 2008).

Em testes de plaquetas *ex vivo* foi demonstrado que nem todas as estatinas inibem o metabolismo do clopidogrel. Neste estudo com rosuvastatina, simvastatina, fluvastatina, pravastatina e atorvastatina, apenas em pacientes tratados com simvastatina ou fluvastatina é que a agregação plaquetar mediada por ADP *ex vivo* foi atenuada (Mach et al., 2005).

A fluvastatina é submetida a um extensivo metabolismo de primeira passagem via CYP2C9 no fígado, o que facilita a sua excreção na biliar. Estudos *in vitro* mostraram que o clopidogrel conseguia inibir a actividade do CYP2C9. Os autores concluíram que tal interacção poderia reduzir a excreção de fluvastatina e aumentar o seu potencial tóxico (Richter et al., 2004). Por outro lado, também se suspeitou que níveis elevados de fluvastatina poderiam inibir o metabolismo do clopidogrel, o que levaria à diminuição do seu efeito ao reduzir a formação do seu metabolito activo. Foi feito então um estudo com 30 pacientes tratados com doses diárias de fluvastatina (80 mg); após 10 dias os pacientes foram administrados com 300 mg de clopidogrel e depois 75 mg/dia; as concentrações de fluvastatina foram avaliadas e foram feitos testes *ex vivo* na actividade plaquetar. A concentração plasmática mais alta de fluvastatina foi alcançada em pacientes a receber clopidogrel. Não havia grupo de controlo para o clopidogrel sozinho neste estudo; no entanto, os autores concluíram que o grau de inibição da actividade antiplaquetar pela fluvastatina não era significativamente diferente de outros estudos, em que os pacientes eram tratados com apenas clopidogrel (Ayalasomayajula et al., 2007). Isto pode dever-se ao facto de que neste estudo a dose do clopidogrel necessária para um efeito terapêutico *in vivo* não ser suficiente para inibir o metabolismo da fluvastatina. Este estudo deve ser interpretado com precaução por causa da falta de grupo controlo apropriado (Bhindi et al., 2008).

As grandes dificuldades para chegar a uma conclusão segura nestes estudos foram as várias limitações metodológicas existentes. No entanto, um estudo com amostras e medições directas das concentrações plasmáticas dos metabolitos do clopidogrel poderá dar uma

conclusão de maior confiança (Bhindi et al., 2008).

Vários estudos foram efectuados para avaliar o significado clínico da interacção estatinas-clopidogrel.

Num outro estudo, foram analisados os resultados de 2927 pacientes tratados com clopidogrel até 5 dias antes de PCI. Alguns destes pacientes foram administrados com estatinas metabolizadas pelo CYP3A4 e outros com estatinas não metabolizadas pelo CYP3A4. Os dados deste estudo revelaram que o clopidogrel e a toma de estatinas ou outros medicamentos que são substratos do CYP3A4 aumentam significativamente a probabilidade de um evento adverso. Pacientes a tomar atorvastatina e clopidogrel apresentaram um aumento para quase o dobro do risco dum evento adverso *major* em 30 dias, comparativamente áqueles administrados apenas com clopidogrel (Brophy et al., 2006). Este estudo, no entanto, apresentou algumas limitações, como o seu desenho retrospectivo e a falta de dados na *compliance* dos fármacos, doses e exclusão de pacientes mais velhos (Bhindi et al., 2008).

Contudo, vários outros estudos apresentaram resultados diferentes. Numa análise de clopidogrel com 1001 pacientes a tomar estatinas metabolizadas pelo CYP3A4 e 158 a tomar estatinas não metabolizadas pelo CYP3A4 os investigadores não descobriram diferenças significativas até um ano com *endpoint* de morte, EM e AVC (Saw et al., 2003).

Um estudo com 15693 pacientes que tinham apresentado um EM sem supra-desnivelamento de ST ou angina instável não revelou um resultado clinicamente adverso em pacientes em que foi co-administrado estatinas metabolizadas pelo CYP3A4 e clopidogrel. Uma análise deste estudo demonstrou um benefício na sobrevivência nesses pacientes tratados com aspirina, clopidogrel e estatinas, em comparação com aspirina e estatina isoladamente (Lim et al., 2005). Este estudo também apresentava limitações, como a não diferenciação entre os diferentes tipos de estatinas usadas, o seu desenho retrospectivo e a falta de documentação da dose e da *compliance* do fármaco (Bhindi et al., 2008).

Outro estudo com 2086 pacientes, que se apresentavam com SCA, voltou a não revelar um resultado clinicamente adverso em pacientes em que foi co-administrado estatinas metabolizadas pelo CYP3A4 e clopidogrel (Wienbergen et al., 2003). As limitações deste estudo incluem a não apresentação de dose das estatinas e dados da *compliance* do fármaco, para além de que foram administradas estatinas lipofílicas em ambos os grupos de estudo, o que fez com que fosse difícil tirar uma conclusão significativa (Bhindi et al., 2008).

Num outro estudo, 1651 pacientes com SCA foram agrupados em dois grupos: no grupo 1, os pacientes recebiam estatinas metabolizadas pelo CYP3A4 e clopidogrel; e no grupo 2, os pacientes recebiam estatinas não metabolizadas pelo CYP3A4 e clopidogrel. Mais uma vez não houve diferença significativa na mortalidade ou eventos cardíacos adversos *major* em pacientes a receber estatinas CYP3A4 e clopidogrel, em comparação àqueles a tomar uma estatina não metabolizada pelo CYP3A4 e clopidogrel (Mukherjee et al., 2005).

O maior estudo clínico que permitiu avaliar a potencial interação clínica entre estatinas e clopidogrel foi um estudo randomizado de 15 604 pacientes com tanto evidências clínicas de ou factores de risco para doença cardiovascular, administrados com aspirina ou aspirina e clopidogrel. A análise desse estudo voltou a não apresentar diferenças no *end-point* primário entre os grupos, sugerindo que não houve interação significativa entre o tipo de estatinas e a toma de clopidogrel. Esta análise baseou-se em 10 078 pacientes, 8246 estavam com uma estatina lipofílica e 1748 com uma estatina não lipofílica (Saw et al., 2007). Tal como nos outros estudos, também este apresenta as suas limitações, apesar de fornecer evidências fortes contra uma interação clinicamente relevante. Esta análise foi feita retrospectivamente, a atribuição das estatinas foi deixada ao critério do médico, nenhuns dados sobre dose e *compliance* foram representados e não foi feita qualquer referência a outros medicamentos que influenciem o sistema CYP (Bhindi et al., 2008).

Um dos problemas destes estudos é o facto de que o princípio pressuposto do mecanismo da interação estatinas-clopidogrel é impedir a acção antiplaquetar do clopidogrel.

Assim, era esperado um aumento no EM e diminuição na hemorragia se esta interação se verificasse. No entanto, vários estudos mostraram um *end-point* composto por EM e hemorragia, o que, apresentados como um final conjunto, pode esconder uma interação importante (Bhindi et al., 2008).

A possível interação em pacientes em doses altas de estatinas metabolizadas pelo CYP3A4 e clopidogrel não pode ser excluída apesar dos estudos não apresentarem nenhum efeito contra-indicativo, apesar dos limites metodológicos. Em suma, é possível que uma interação farmacocinética importante exista, mas são precisos mais estudos relativos a este assunto (Bhindi et al., 2008).

### **3 - Interação entre estatinas e varfarina**

Anticoagulantes orais (ex. Acenocoumarol, flunidiona, varfarina) são antagonistas da vitamina K que inibem a síntese dos factores de coagulação e são muito usados em várias condições patológicas (ex. profilaxia ou tratamento de trombose venosa profunda e embolia pulmonar, prevenção de complicações tromboembólicas associadas com fibrilhação auricular, implantação de próteses valvulares e EM) (Mondillo et al., 2005).

A varfarina é o anticoagulante oral mais usado devido ao seu resultado e duração de acção relativamente previsíveis e à sua excelente biodisponibilidade. Como a hipercolesterolemia é um factor de risco *major* para várias desordens tromboembólicas, há uma grande probabilidade de prescrever varfarina com agentes hipolipemiantes (Jindal et al., 2005). Alguns relatos mostraram que as estatinas podem aumentar os efeitos anticoagulantes dos antagonistas da vitamina K. Há dados de um aumento na razão normalizada internacional (INR) após a administração de varfarina com fluvastatina, lovastatina, simvastatina e rosuvastatina, mas não com pravastatina ou atorvastatina (Mondillo et al., 2005).

A administração de varfarin pode ser um desafio porque muitos factores podem afectar a dose apropriada, e é necessário uma monitorização frequente do INR. De facto, quando o efeito anticoagulante da varfarina aumenta também as suas complicações hemorrágicas aumentam (Simonson et al., 2005).

Estudos *in vitro* em hepatócitos humanos indicam que o CYP2C9 é a principal isoforma envolvida no metabolismo da rosuvastatina. O enantiómero S-varfarina é 5 vezes mais potente com um inibidor da vitamina K que a R-varfarina, e a isoenzima CYP2C9 é responsável por 80-85% do seu metabolismo. Ensaio da interacção da warfarina com a rosuvastatina foram feitos devido às interacções documentadas com outras estatinas, e porque o CYP2C9 é uma enzima envolvida no metabolismo da rosuvastatina e da S-varfarina (Simonson et al., 2005).

Num estudo, no ensaio A foram incluídos 18 voluntários saudáveis administrados com 40 mg de rosuvastatina ou placebo durante 10 dias e ao 7º dia foi-lhes administrada uma dose de 25 mg de varfarina; no ensaio B, 7 pacientes a receber terapêutica com varfarina, com INR estável entre 2 e 3, foram co-administrados com uma dose oral de 10 mg/dia de rosuvastatina até 14 dias. Se até ao 14º dia o INR se manteve inferior a 3 aumentou-se a rosuvastatina para 80 mg. Os resultados indicaram que a rosuvastatina pode aumentar o efeito anticoagulante da varfarina. Contudo, o mecanismo de interacção destes fármacos ainda é desconhecido. A rosuvastatina não teve efeito nas concentrações plasmáticas dos enantiómeros da varfarina, mas a fracção livre dos enantiómeros da varfarina no plasma não foi medida. Este estudo refere que há indicação para a monitorização apropriada do INR quando esta combinação é administrada (Mondillo et al., 2005).

Por outro lado, noutra estudo também com a rosuvastatina a conclusão não foi a mesma. 12 voluntários saudáveis do sexo masculino foram administrados com uma dose oral diária de 5 mg de varfarina durante 14 dias e concomitantemente com 40 mg/dia de rosuvastatina (tratamento A) ou placebo (tratamento B) dos dias 8 ao 14. Foram avaliados os

parâmetros farmacodinâmicos tempo de protrombina (PT) e INR todos os dias antes da administração do fármaco. Nos dias 8, 10, 12 e 14 o PT e INR foram avaliados 4h depois da administração de rosuvastatina ou placebo. Foram também avaliados os tempos de hemorragia e de coagulação nos dias 1, 8, 14, antes da dose. Neste estudo a rosuvastatina não alterou significativamente os efeitos anticoagulantes da varfarina (Jindal et al., 2005).

Foram relatados num trabalho 3 casos de suspeita de interacção entre fluvastatina e varfarina. Três pacientes a receber doses estáveis de varfarina com INR dentro dos limites terapêuticos, apresentaram aumentos no INR quando lhes foi administrada fluvastatina. Apesar de nenhum ter apresentado episódios hemorrágicos, foi necessário reduzir a dose semanal de varfarina para atingir níveis adequados de anticoagulação. O mecanismo da interacção entre fluvastatina e varfarina não é conhecido. Até mais estudos, os pacientes devem ser monitorizados mais frequentemente quando se inicia, pára ou se ajusta a administração de fluvastatina em pacientes a fazer tratamento com varfarina (Trilli et al., 1996).

Num outro estudo, foram administrados 80 mg de atorvastatina a 12 pacientes em tratamento crónico com varfarina durante 2 semanas. O tempo de protrombina médio diminuiu ligeiramente, mas apenas nos primeiros dias das 2 semanas. Assim, a atorvastatina não apresentou efeito significativo na actividade anticoagulante da varfarina. Este estudo refere que não devem ser necessários ajustes na dose de warfarina quando administrada concomitantemente com a atorvastatina (Stern et al., 1997).

Foi descrito um caso de hemorragia cerebral após substituição de atorvastatina por simvastatina num paciente a fazer tratamento com varfarina. Este paciente foi admitido no hospital devido a um INR superior a 8, detectado num exame de rotina para monitorizar a terapêutica com varfarina. Quatro semanas antes este paciente passou de tomar 10 mg/dia de atorvastatina para 10 mg/dia de simvastatina. O paciente fazia tratamento com varfarina (2,5 mg/dia) desde á 30 anos, devido a episodios de trombose venosa profunda e embolia

pulmonar. O INR do paciente apresentava-se entre 2,0–3,5 (a margem terapêutica) à mais de 2 anos. Quando hospitalizado foram-lhe administrados 5 mg orais de vitamina K. Algumas horas depois houve perda de sensibilidade e movimento do membro superior direito e uma Tomografia axial computadorizada (TAC) mostrou hemorragia maciça no hemisfério cerebral esquerdo. O paciente faleceu no dia seguinte (Westergren et al., 2007).

Alguns estudos mostraram aumento significativo nos efeitos da warfarina na administração concomitante com simvastatina. O mecanismo desta interação é ainda desconhecido, mas é possível que esteja associado com a redução da eliminação da warfarina. A atorvastatina e a simvastatina parecem diferir na sua potência de interação com a warfarina. Deve-se ter cuidado com o risco de interação quando se administra concomitantemente warfarina e simvastatina (Westergren et al., 2007).

Em 46 pacientes adultos com terapêutica regular de warfarina foi trocada a medicação de pravastatina para simvastatina. O INR médio aumentou significativamente de 2,42 para 2,74; o número de pacientes com INR superior a 3 passou de 6 para 16 pacientes. No entanto, não foi relatado nenhum episódio anormal de hemorragia. Os autores deste estudo dizem que este resultado indica que é seguro alterar a terapêutica de pravastatina para simvastatina em pacientes em terapêutica concomitante com warfarina (Lin et al., 1999).

A interação entre estatinas e warfarina é ainda um tema que necessita de mais estudos, uma vez que estes dois fármacos são muito frequentemente utilizadas em conjunto. Ainda não se sabe qual o mecanismo de uma possível interação entre eles, nem há consenso em relação ao facto de que algumas estatinas podem não interagir com a warfarina. No entanto, o risco de hemorragia pela potenciação dos efeitos anticoagulantes da warfarina pelas estatinas deve ser tido em conta, visto haver casos que relatam esta provável consequência.

## VII - Conclusão

As estatinas apresentam vários efeitos para além da diminuição dos níveis de colesterol. Estes efeitos incluem a melhoria da função endotelial, diminuição da inflamação vascular, inibição da proliferação de músculo liso ou imuno-modulação. Há dados que sugerem que a maior parte destes efeitos são consequência da inibição da síntese de isoprenóides, que vão afectar várias vias de sinalização posteriores (Wang et al., 2008). Estudos recentes sugerem que as estatinas podem prevenir AVCs isquémicos e possivelmente AD. Para além disso, outros dados sugerem que as estatinas podem futuramente ser usados como anti-cancerígenos ou como agentes terapêuticos na osteoporose (Miida et al., 2004). São necessários mais estudos para determinar até que extensão é que estes efeitos pleiotrópicos contribuem para os benefícios clínicos da terapêutica com estatinas (Wang et al., 2008).

Vários autores descobriram que as estatinas produzem um efeito favorável em alguns parâmetros da coagulação e da fibrinólise que se pensam serem factores de risco para o desenvolvimento de doença cardiovascular (Krysiak et al., 2003). A diminuição da formação de trombina, de várias reacções pró-coagulantes desta e da expressão do FT são maioritariamente atribuídas ao efeito das estatinas na inibição da isoprenilação das proteínas sinalizadoras. Ainda não é certo até que ponto é que estas propriedades das estatinas encontradas *in vitro* e/ou em modelos animais contribuem para a redução da mortalidade ou morbidade cardiovascular. Para além disso, ainda não é conhecido se todas as estatinas têm o mesmo mecanismo ou propriedades anticoagulantes. Estudos clínicos futuros podem ajudar a entender o impacto das estatinas nas reacções da cascata de coagulação e estabelecer o papel destas na prevenção e tratamento de trombose arterial em vasos ateroscleróticos e, possivelmente, na trombose venosa (Undas et al., 2005). O efeito das estatinas na coagulação e fibrinólise é moderado. No entanto, distúrbios na homeostasia têm um papel importante no desenvolvimento da aterosclerose e suas complicações. Assim, mesmo uma normalização

parcial destes distúrbios podem produzir benefícios clínicos (Krysiak et al., 2003).

A aspirina combinada com estatinas não revelou um efeito benéfico na limitação do tamanho do EM. Por outro lado, quando se combinam estatinas com outros agentes antiplaquetares (como o dipiridamol e o cilostazol) o efeito verificado foi sinérgico, limitando o tamanho do EM, mesmo com doses que não têm efeito quando estes fármacos são administrados isoladamente. No entanto, ainda não está demonstrado o benefício destas combinações num quadro clínico (Ye et al., 2010).

Há dados que suportam uma possível interacção farmacocinética entre estatinas e clopidogrel, principalmente com estatinas lipofílicas que são metabolizadas pela mesma isoenzima. No entanto, a maioria dos estudos clínicos não detectaram tal efeito. Estes resultados contraditórios podem ser devidos a vários factores, como as metodologias usadas nos estudos *ex vivo*, o facto dos estudos *in vitro* não reflectirem mecanismos que *in vivo* podem compensar a inibição da actividade metabólica de uma isoenzima e o facto de muitos dos estudos clínicos apresentarem um *end-point* com tanto EM e hemorragia. Actualmente, não existem evidências clínicas para parar a co-administração de estatinas metabolizadas pelo CYP3A4 e o clopidogrel; contudo, são necessários mais estudos para esclarecer esta temática (Bhindi et al., 2008).

Estudos sobre a interacção entre a varfarina e estatinas são ainda muito escassos, e aqueles que existem não apresentam resultados concordantes. Mais estudos são necessários sobre este tema pelo facto de existirem relatos de casos suspeitos desta possível interacção. É preciso ter em conta que as estatinas podem potenciar os efeitos anticoagulantes da varfarina o que aumenta o risco de hemorragia nestes pacientes.

## VIII – Referências bibliográficas

- Aikawa M, Rabkin E, Sugiyama S, Voglic SJ, Fukumoto Y, Furukawa Y, Shiomi M, Schoen FJ, Libby P. An HMG-CoA reductase inhibitor, cerivastatin, suppresses growth of macrophages expressing matrix metalloproteinases and tissue factor in vivo and in vitro. *Circulation*. 2001 Jan 16;103(2):276-83.
- Ali FY, Armstrong PC, Dhanji AR, Tucker AT, Paul-Clark MJ, Mitchell JA, Warner TD. Antiplatelet actions of statins and fibrates are mediated by PPARs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009 May;29(5):706-11. Epub 2009 Jan 15.
- Ambrosi P, Aillaud MF, Habib G, Kreitmann B, Métras D, Luccioni R, Bouvenot G, Juhan-Vague I. Fluvastatin decreases soluble thrombomodulin in cardiac transplant recipients. *Thromb Haemost*. 2000 Jan;83(1):46-8.
- Aoki I, Aoki N, Kawano K, Shimoyama K, Maki A, Homori M, Yanagisawa A, Yamamoto M, Kawai Y, Ishikawa K. Platelet-dependent thrombin generation in patients with hyperlipidemia. *J Am Coll Cardiol*. 1997 Jul;30(1):91-6.
- Atalar E, Ozmen F, Haznedaroglu I, Açil T, Ozer N, Ovünç K, Aksöyek S, Kes S. Effects of short-term atorvastatin treatment on global fibrinolytic capacity, and sL-selectin and sFas levels in hyperlipidemic patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol*. 2002 Aug;84(2-3):227-31.
- Atar S, Ye Y, Lin Y, Freeberg SY, Nishi SP, Rosanio S, Huang MH, Uretsky BF, Perez-Polo JR, Birnbaum Y. Atorvastatin-induced cardioprotection is mediated by increasing inducible nitric oxide synthase and consequent S-nitrosylation of cyclooxygenase-2. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006 May;290(5):H1960-8.
- Ayalasomayajula SP, Vaidyanathan S, Kemp C, Prasad P, Balch A, Dole WP. Effect of clopidogrel on the steady-state pharmacokinetics of fluvastatin. *J Clin Pharmacol*. 2007 May;47(5):613-9.

- Bellosta S, Paoletti R, Corsini A. Safety of statins: focus on clinical pharmacokinetics and drug interactions. *Circulation*. 2004 Jun 15;109(23 Suppl 1):III50-7.
- Bevilacqua M, Bettica P, Milani M, Vago T, Rogolino A, Righini V, Santoli E, Norbiato G. Effect of fluvastatin on lipids and fibrinolysis in coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 1997 Jan 1;79(1):84-7.
- Bhindi R, Ormerod O, Newton J, Banning AP, Testa L. Interaction between statins and clopidogrel: is there anything clinically relevant? *QJM*. 2008 Dec;101(12):915-25.
- Birnbaum Y, Ashitkov T, Uretsky BF, Ballinger S, Motamedi M. Reduction of infarct size by short-term pretreatment with atorvastatin. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2003 Jan;17(1):25-30.
- Birnbaum Y, Lin Y, Ye Y, Martinez JD, Huang MH, Lui CY, Perez-Polo JR, Uretsky BF. Aspirin before reperfusion blunts the infarct size limiting effect of atorvastatin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007 Jun;292(6):H2891-7.
- Birnbaum Y, Ye Y, Lin Y, Freeberg SY, Huang MH, Perez-Polo JR, Uretsky BF. Aspirin augments 15-epi-lipoxin A4 production by lipopolysaccharide, but blocks the pioglitazone and atorvastatin induction of 15-epi-lipoxin A4 in the rat heart. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2007 Feb;83(1-2):89-98.
- Birnbaum Y, Ye Y, Rosanio S, Tavackoli S, Hu ZY, Schwarz ER, Uretsky BF. Prostaglandins mediate the cardioprotective effects of atorvastatin against ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 2005 Feb 1;65(2):345-55.
- Bo M, Bonino F, Neirotti M, Gottero M, Pernigotti L, Molaschi M, Fabris F. Hemorheologic and coagulative pattern in hypercholesterolemic subjects treated with lipid-lowering drugs. *Angiology*. 1991 Feb;42(2):106-13.
- Bo M, Nicoletto MT, Fiandra U, Mercadante G, Piliego T, Fabris F. Treatment of heterozygous familial hypercholesterolemia: atorvastatin vs simvastatin. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2001 Feb;11(1):17-24.

- Boyd RA, Stern RH, Stewart BH, Wu X, Reyner EL, Zegarac EA, Randinitis EJ, Whitfield L. Atorvastatin coadministration may increase digoxin concentrations by inhibition of intestinal P-glycoprotein-mediated secretion. *J Clin Pharmacol*. 2000 Jan;40(1):91-8.
- Brophy JM, Babapulle MN, Costa V, Rinfret S. A pharmacoepidemiology study of the interaction between atorvastatin and clopidogrel after percutaneous coronary intervention. *Am Heart J*. 2006 Aug;152(2):263-9.
- Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Rader DJ, Rouleau JL, Belder R, Joyal SV, Hill KA, Pfeffer MA, Skene AM; Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 Investigators. Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2004 Apr 8;350(15):1495-504.
- Cipollone F, Mezzetti A, Porreca E, Di Febbo C, Nutini M, Fazio M, Falco A, Cucurullo F, Davì G. Association between enhanced soluble CD40L and prothrombotic state in hypercholesterolemia: effects of statin therapy. *Circulation*. 2002 Jul 23;106(4):399-402.
- Corsini A, Bellosta S, Baetta R, Fumagalli R, Paoletti R, Bernini F. New insights into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins. *Pharmacol Ther*. 1999 Dec;84(3):413-28.
- Cortellaro M, Cofrancesco E, Arbustini E, Rossi F, Negri A, Tremoli E, Gabrielli L, Camera M. Atorvastatin and thrombogenicity of the carotid atherosclerotic plaque: the ATROCAP study. *Thromb Haemost*. 2002 Jul;88(1):41-7.
- D'Annunzio V, Donato M, Erni L, Miksztowicz V, Buchholz B, Carrión CL, Schreier L, Wikinski R, Gelpi RJ, Berg G, Basso N. Rosuvastatin given during reperfusion decreases infarct size and inhibits matrix metalloproteinase-2 activity in normocholesterolemic and hypercholesterolemic rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2009 Feb;53(2):137-44.

- Dahlbäck B. Blood coagulation. *Lancet*. 2000 May 6;355(9215):1627-32.
- Dangas G, Badimon JJ, Smith DA, Unger AH, Levine D, Shao JH, Meraj P, Fier C, Fallon JT, Ambrose JA. Pravastatin therapy in hyperlipidemia: effects on thrombus formation and the systemic hemostatic profile. *J Am Coll Cardiol*. 1999 Apr;33(5):1294-304.
- Dangas G, Smith DA, Badimon JJ, Unger AH, Shao JH, Meraj P, Cohen AM, Levine D, Fallon JT, Ambrose JA. Gender differences in blood thrombogenicity in hyperlipidemic patients and response to pravastatin. *Am J Cardiol*. 1999 Sep 15;84(6):639-43.
- Dangas G, Smith DA, Unger AH, Shao JH, Meraj P, Fier C, Cohen AM, Fallon JT, Badimon JJ, Ambrose JA. Pravastatin: an antithrombotic effect independent of the cholesterol-lowering effect. *Thromb Haemost*. 2000 May;83(5):688-92.
- de Maat MP. Effects of diet, drugs, and genes on plasma fibrinogen levels. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;936:509-21.
- Di Garbo V, Bono M, Di Raimondo D, De Simone R, Raneli G, Avellone G. Non lipid, dose-dependent effects of pravastatin treatment on hemostatic system and inflammatory response. *Eur J Clin Pharmacol*. 2000 Jul;56(4):277-84.
- Egashira K, Inou T, Hirooka Y, Yamada A, Maruoka Y, Kai H, Sugimachi M, Suzuki S, Takeshita A. Impaired coronary blood flow response to acetylcholine in patients with coronary risk factors and proximal atherosclerotic lesions. *J Clin Invest*. 1993 Jan;91(1):29-37.
- Eto M, Kozai T, Cosentino F, Joch H, Lüscher TF. Statin prevents tissue factor expression in human endothelial cells: role of Rho/Rho-kinase and Akt pathways. *Circulation*. 2002 Apr 16;105(15):1756-9.
- Ferro D, Basili S, Alessandri C, Mantovani B, Cordova C, Violi F. Simvastatin reduces monocyte-tissue-factor expression type IIa hypercholesterolaemia. *Lancet*. 1997 Oct 25;350(9086):1222.

Gensini GF, Comeglio M, Colella A. Classical risk factors and emerging elements in the risk profile for coronary artery disease. *Eur Heart J*. 1998 Feb;19 Suppl A:A53-61.

Glynn RJ, 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, Ridker PM. A randomized trial of rosuvastatin in the prevention of venous thromboembolism. *N Engl J Med*. 2009 Apr 30;360(18):1851-61.

Goldstein JL, Brown MS. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature*. 1990 Feb 1;343(6257):425-30.

Gottlieb S. Statins can help prevent dementia. *BMJ*. 2000 Nov 18;321(7271):1241.

Hansen JB, Huseby KR, Huseby NE, Sandset PM, Hanssen TA, Nordøy A. Effect of cholesterol lowering on intravascular pools of TFPI and its anticoagulant potential in type II hyperlipoproteinemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995 Jul;15(7):879-85.

Hashimoto A, Miyakoda G, Hirose Y, Mori T. Activation of endothelial nitric oxide synthase by cilostazol via a cAMP/protein kinase A- and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent mechanism. *Atherosclerosis*. 2006 Dec;189(2):350-7.

Hebert PR, Gaziano JM, Chan KS, Hennekens CH. Cholesterol lowering with statin drugs, risk of stroke, and total mortality. An overview of randomized trials. *JAMA*. 1997 Jul 23-30;278(4):313-21.

Heinrich J, Assmann G. Fibrinogen and cardiovascular risk. *J Cardiovasc Risk*. 1995 Jun;2(3):197-205.

Hölschermann H, Hilgendorff A, Kemkes-Matthes B, Schönburg M, Bauer EP, Tillmanns H, Haberbosch W. Simvastatin attenuates vascular hypercoagulability in cardiac transplant recipients. *Transplantation*. 2000 May 15;69(9):1830-6.

Illingworth DR, Tobert JA. HMG-CoA reductase inhibitors. *Adv Protein Chem*. 2001;56:77-114.

- Isaacsohn JL, Setaro JF, Nicholas C, Davey JA, Diotalevi LJ, Christianson DS, Liskov E, Stein EA, Black HR. Effects of lovastatin therapy on plasminogen activator inhibitor-1 antigen levels. *Am J Cardiol.* 1994 Oct 1;74(7):735-7.
- Istvan ES, Deisenhofer J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase. *Science.* 2001 May 11;292(5519):1160-4.
- Ito MK, Talbert RL, Tsimikas S. Statin-associated pleiotropy: possible beneficial effects beyond cholesterol reduction. *Pharmacotherapy.* 2006 Jul;26(7 Pt 2):85S-97S.
- Ito MK. The effects of converting from simvastatin to atorvastatin on plasminogen activator inhibitor type-1. *J Clin Pharmacol.* 2001 Jul;41(7):779-82.
- Jindal D, Tandon M, Sharma S, Pillai KK. Pharmacodynamic evaluation of warfarin and rosuvastatin co-administration in healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol.* 2005 Oct;61(9):621-5.
- Jones SP, Teshima Y, Akao M, Marbán E. Simvastatin attenuates oxidant-induced mitochondrial dysfunction in cardiac myocytes. *Circ Res.* 2003 Oct 17;93(8):697-9.
- Joukhadar C, Klein N, Prinz M, Schrolnberger C, Vukovich T, Wolzt M, Schmetterer L, Dorner GT. Similar effects of atorvastatin, simvastatin and pravastatin on thrombogenic and inflammatory parameters in patients with hypercholesterolemia. *Thromb Haemost.* 2001 Jan;85(1):47-51.
- Juhan-Vague I, Alessi MC, Morange PE. Hypofibrinolysis and increased PAI-1 are linked to atherothrombosis via insulin resistance and obesity. *Ann Med.* 2000 Dec;32 Suppl 1:78-84.
- Kannel WB, Wolf PA, Castelli WP, D'Agostino RB. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. The Framingham Study. *JAMA.* 1987 Sep 4;258(9):1183-6.
- Krysiak R, Okopień B, Herman Z. Effects of HMG-CoA reductase inhibitors on coagulation and fibrinolysis processes. *Drugs.* 2003;63(17):1821-54.

- LaRosa JC, He J, Vupputuri S. Effect of statins on risk of coronary disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA*. 1999 Dec 22-29;282(24):2340-6.
- Lau WC, Waskell LA, Watkins PB, Neer CJ, Horowitz K, Hopp AS, Tait AR, Carville DG, Guyer KE, Bates ER. Atorvastatin reduces the ability of clopidogrel to inhibit platelet aggregation: a new drug-drug interaction. *Circulation*. 2003 Jan 7;107(1):32-7.
- Laufs U, Fata VL, Liao JK. Inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl (HMG)-CoA reductase blocks hypoxia-mediated down-regulation of endothelial nitric oxide synthase. *J Biol Chem*. 1997 Dec 12;272(50):31725-9.
- Laufs U, Gertz K, Huang P, Nickenig G, Böhm M, Dirnagl U, Endres M. Atorvastatin upregulates type III nitric oxide synthase in thrombocytes, decreases platelet activation, and protects from cerebral ischemia in normocholesterolemic mice. *Stroke*. 2000 Oct;31(10):2442-9.
- Laufs U, La Fata V, Plutzky J, Liao JK. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation*. 1998 Mar 31;97(12):1129-35.
- Laufs U, Liao JK. Post-transcriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase mRNA stability by Rho GTPase. *J Biol Chem*. 1998 Sep 11;273(37):24266-71.
- Lefer AM, Campbell B, Shin YK, Scalia R, Hayward R, Lefer DJ. Simvastatin preserves the ischemic-reperfused myocardium in normocholesterolemic rat hearts. *Circulation*. 1999 Jul 13;100(2):178-84.
- Lim MJ, Spencer FA, Gore JM, Dabbous OH, Agnelli G, Kline-Rogers EM, Dibenedetto D, Eagle KA, Mehta RH; GRACE Investigators. Impact of combined pharmacologic treatment with clopidogrel and a statin on outcomes of patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: perspectives from a large multinational registry. *Eur Heart J*. 2005 Jun;26(11):1063-9.

- Lin JC, Ito MK, Stolley SN, Morreale AP, Marcus DB. The effect of converting from pravastatin to simvastatin on the pharmacodynamics of warfarin. *J Clin Pharmacol.* 1999 Jan;39(1):86-90.
- Lin TH, Huang CH, Voon WC, Yen HW, Lai HM, Liang HY, Lu YH, Lee KT, Lee CS, Lai WT, Sheu SH. The effect of fluvastatin on fibrinolytic factors in patients with hypercholesterolemia. *Kaohsiung J Med Sci.* 2000 Dec;16(12):600-6.
- Lopez S, Peiretti F, Bonardo B, Deprez-Beauclair P, Laouenan H, Juhan-Vague I, Nalbone G. Effect of atorvastatin on plasminogen activator inhibitor type-1 synthesis in human monocytes/macrophages. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2001 Jun;37(6):762-8.
- Mach F, Senouf D, Fontana P, Boehlen F, Reber G, Daali Y, de Moerloose P, Sigwart U. Not all statins interfere with clopidogrel during antiplatelet therapy. *Eur J Clin Invest.* 2005 Aug;35(8):476-81.
- Małyszko J, Małyszko JS, Hryszko T, Myśliwiec M. Effects of long-term treatment with simvastatin on some hemostatic parameters in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Am J Nephrol.* 2001 Sep-Oct;21(5):373-7.
- Manickavasagam S, Ye Y, Lin Y, Perez-Polo RJ, Huang MH, Lui CY, Hughes MG, McAdoo DJ, Uretsky BF, Birnbaum Y. The cardioprotective effect of a statin and cilostazol combination: relationship to Akt and endothelial nitric oxide synthase activation. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2007 Oct;21(5):321-30.
- Mayer J, Eller T, Brauer P, Solleder EM, Schäfer RM, Keller F, Kochsiek K. Effects of long-term treatment with lovastatin on the clotting system and blood platelets. *Ann Hematol.* 1992 Apr;64(4):196-201.
- McFarlane SI, Muniyappa R, Francisco R, Sowers JR. Clinical review 145: Pleiotropic effects of statins: lipid reduction and beyond. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Apr;87(4):1451-8.

- Meade TW, Mellows S, Brozovic M, Miller GJ, Chakrabarti RR, North WR, Haines AP, Stirling Y, Imeson JD, Thompson SG. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet*. 1986 Sep 6;2(8506):533-7.
- Miida T, Hirayama S, Nakamura Y. Cholesterol-independent effects of statins and new therapeutic targets: ischemic stroke and dementia. *J Atheroscler Thromb*. 2004;11(5):253-64.
- Minami T, Sugiyama A, Wu SQ, Abid R, Kodama T, Aird WC. Thrombin and phenotypic modulation of the endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004 Jan;24(1):41-53.
- Mitropoulos KA, Armitage JM, Collins R, Meade TW, Reeves BE, Wallendszus KR, Wilson SS, Lawson A, Peto R. Randomized placebo-controlled study of the effects of simvastatin on haemostatic variables, lipoproteins and free fatty acids. The Oxford Cholesterol Study Group. *Eur Heart J*. 1997 Feb;18(2):235-41.
- Mitsios JV, Papathanasiou AI, Rodis FI, Elisaf M, Goudevenos JA, Tselepis AD. Atorvastatin does not affect the antiplatelet potency of clopidogrel when it is administered concomitantly for 5 weeks in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 2004 Mar 23;109(11):1335-8.
- Mondillo S, Ballo P, Galderisi M. Rosuvastatin-acenocoumarol interaction. *Clin Ther*. 2005 Jun;27(6):782-4.
- Morrissey JH. Tissue factor: an enzyme cofactor and a true receptor. *Thromb Haemost*. 2001 Jul;86(1):66-74.
- Mueck AO, Seeger H, Deuringer FU, Wallwiener D. Effect of an estrogen/statin combination on biochemical markers of endothelial function in human coronary artery cell cultures. *Menopause*. 2001 May-Jun;8(3):216-21.

- Mukherjee D, Kline-Rogers E, Fang J, Munir K, Eagle KA. Lack of clopidogrel-CYP3A4 statin interaction in patients with acute coronary syndrome. *Heart*. 2005 Jan;91(1):23-6.
- Mundy G, Garrett R, Harris S, Chan J, Chen D, Rossini G, Boyce B, Zhao M, Gutierrez G. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science*. 1999 Dec 3;286(5446):1946-9.
- Musiał J, Undas A, Undas R, Brozek J, Szczeklik A. Treatment with simvastatin and low-dose aspirin depresses thrombin generation in patients with coronary heart disease and borderline-high cholesterol levels. *Thromb Haemost*. 2001 Feb;85(2):221-5.
- Neubauer H, Günesdogan B, Hanefeld C, Spiecker M, Mügge A. Lipophilic statins interfere with the inhibitory effects of clopidogrel on platelet function--a flow cytometry study. *Eur Heart J*. 2003 Oct;24(19):1744-9.
- Newby DE, Witherow FN, Wright RA, Bloomfield P, Ludlam CA, Boon NA, Fox KA, Webb DJ. Hypercholesterolaemia and lipid lowering treatment do not affect the acute endogenous fibrinolytic capacity in vivo. *Heart*. 2002 Jan;87(1):48-53.
- Nordt TK, Bode C. Impaired endogenous fibrinolysis in diabetes mellitus: mechanisms and therapeutic approaches. *Semin Thromb Hemost*. 2000;26(5):495-501.
- Pasternak RC, Smith SC Jr, Bairey-Merz CN, Grundy SM, Cleeman JI, Lenfant C; American College of Cardiology; American Heart Association; National Heart, Lung and Blood Institute. ACC/AHA/NHLBI clinical advisory on the use and safety of statins. *J Am Coll Cardiol*. 2002 Aug 7;40(3):567-72.
- Pritchard KA Jr, Groszek L, Smalley DM, Sessa WC, Wu M, Villalon P, Wolin MS, Stemerman MB. Native low-density lipoprotein increases endothelial cell nitric oxide synthase generation of superoxide anion. *Circ Res*. 1995 Sep;77(3):510-8

- Puccetti L, Bruni F, Bova G, Cercignani M, Palazzuoli A, Console E, Auteri A, Pasqui AL. Effect of diet and treatment with statins on platelet-dependent thrombin generation in hypercholesterolemic subjects. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2001 Dec;11(6):378-87.
- Puccetti L, Bruni F, Di Renzo M, Bova G, Cercignani M, Iadanza A, Auteri A, Pasqui AL. Hypercoagulable state in hypercholesterolemic subjects assessed by platelet-dependent thrombin generation: in vitro effect of cerivastatin. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 1999 Sep-Oct;3(5):197-204.
- Range SP, Pang L, Holland E, Knox AJ. Selectivity of cyclo-oxygenase inhibitors in human pulmonary epithelial and smooth muscle cells. *Eur Respir J.* 2000 Apr;15(4):751-6.
- Ratajczak P, Damy T, Heymes C, Oliviero P, Marotte F, Robidel E, Sercombe R, Boczkowski J, Rappaport L, Samuel JL. Caveolin-1 and -3 dissociations from caveolae to cytosol in the heart during aging and after myocardial infarction in rat. *Cardiovasc Res.* 2003 Feb;57(2):358-69.
- Richter T, Mürdter TE, Heinkele G, Pleiss J, Tatzel S, Schwab M, Eichelbaum M, Zanger UM. Potent mechanism-based inhibition of human CYP2B6 by clopidogrel and ticlopidine. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004 Jan;308(1):189-97.
- Ridker PM, Hennekens CH, Stampfer MJ, Manson JE, Vaughan DE. Prospective study of endogenous tissue plasminogen activator and risk of stroke. *Lancet.* 1994 Apr 16;343(8903):940-3.
- Ridker PM, Vaughan DE, Stampfer MJ, Manson JE, Hennekens CH. Endogenous tissue-type plasminogen activator and risk of myocardial infarction. *Lancet.* 1993 May 8;341(8854):1165-8.
- Rosenson RS, Tangney CC. Antiatherothrombotic properties of statins: implications for cardiovascular event reduction. *JAMA.* 1998 May 27;279(20):1643-50.

- Saw J, Brennan DM, Steinhubl SR, Bhatt DL, Mak KH, Fox K, Topol EJ; CHARISMA Investigators. Lack of evidence of a clopidogrel-statin interaction in the CHARISMA trial. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Jul 24;50(4):291-5.
- Saw J, Steinhubl SR, Berger PB, Kereiakes DJ, Serebruany VL, Brennan D, Topol EJ; Clopidogrel for the Reduction of Events During Observation Investigators. Lack of adverse clopidogrel-atorvastatin clinical interaction from secondary analysis of a randomized, placebo-controlled clopidogrel trial. *Circulation*. 2003 Aug 26;108(8):921-4.
- Sbarouni E, Melissari E, Kyriakides ZS, Kremastinos DT. Effects of simvastatin or hormone replacement therapy, or both, on fibrinogen, factor VII, and plasminogen activator inhibitor levels in postmenopausal women with proven coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2000 Jul 1;86(1):80-3.
- Schaper W. Dipyridamole, an underestimated vascular protective drug. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2005 Oct;19(5):357-63.
- Seljeflot I, Tonstad S, Hjermann I, Arnesen H. Improved fibrinolysis after 1-year treatment with HMG CoA reductase inhibitors in patients with coronary heart disease. *Thromb Res*. 2002 Feb 15;105(4):285-90.
- Seljeflot I, Tonstad S, Hjermann I, Arnesen H. Reduced expression of endothelial cell markers after 1 year treatment with simvastatin and atorvastatin in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis*. 2002 May;162(1):179-85.
- Shinmura K, Kodani E, Xuan YT, Dawn B, Tang XL, Bolli R. Effect of aspirin on late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits. *J Am Coll Cardiol*. 2003 Apr 2;41(7):1183-94.
- Simonson SG, Martin PD, Mitchell PD, Lasseter K, Gibson G, Schneck DW. Effect of rosuvastatin on warfarin pharmacodynamics and pharmacokinetics. *J Clin Pharmacol*. 2005 Aug;45(8):927-34.

- Song JC, White CM. Do HMG-CoA reductase inhibitors affect fibrinogen? *Ann Pharmacother*. 2001 Feb;35(2):236-41.
- Staffa JA, Chang J, Green L. Cerivastatin and reports of fatal rhabdomyolysis. *N Engl J Med*. 2002 Feb 14;346(7):539-40.
- Stern R, Abel R, Gibson GL, Besserer J. Atorvastatin does not alter the anticoagulant activity of warfarin. *J Clin Pharmacol*. 1997 Nov;37(11):1062-4.
- Sundaresan M, Yu ZX, Ferrans VJ, Sulciner DJ, Gutkind JS, Irani K, Goldschmidt-Clermont PJ, Finkel T. Regulation of reactive-oxygen-species generation in fibroblasts by Rac1. *Biochem J*. 1996 Sep 1;318 ( Pt 2):379-82.
- Suzuki K, Miura T, Miki T, Tsuchida A, Shimamoto K. Infarct-size limitation by preconditioning is enhanced by dipyridamole administered before but not after preconditioning: evidence for the role of interstitial adenosine level during preconditioning as a primary determinant of cardioprotection. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1998 Jan;31(1):1-9.
- Sytkowski PA, Kannel WB, D'Agostino RB. Changes in risk factors and the decline in mortality from cardiovascular disease. The Framingham Heart Study. *N Engl J Med*. 1990 Jun 7;322(23):1635-41.
- Takemoto M, Liao JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Nov;21(11):1712-9.
- Takemoto M, Node K, Nakagami H, Liao Y, Grimm M, Takemoto Y, Kitakaze M, Liao JK. Statins as antioxidant therapy for preventing cardiac myocyte hypertrophy. *J Clin Invest*. 2001 Nov;108(10):1429-37.
- Taniguchi M, Magata S, Suzuki T, Shimamura T, Jin MB, Iida J, Furukawa H, Todo S. Dipyridamole protects the liver against warm ischemia and reperfusion injury. *J Am Coll Surg*. 2004 May;198(5):758-69.

- Trilli LE, Kelley CL, Aspinall SL, Kroner BA. Potential interaction between warfarin and fluvastatin. *Ann Pharmacother.* 1996 Dec;30(12):1399-402.
- Tsikouris JP, Suarez JA, Meyerrose GE. Plasminogen activator inhibitor-1: physiologic role, regulation, and the influence of common pharmacologic agents. *J Clin Pharmacol.* 2002 Nov;42(11):1187-99.
- Undas A, Brummel KE, Musial J, Mann KG, Szczeklik A. Simvastatin depresses blood clotting by inhibiting activation of prothrombin, factor V, and factor XIII and by enhancing factor Va inactivation. *Circulation.* 2001 May 8;103(18):2248-53.
- Undas A, Brummel-Ziedins KE, Mann KG. Statins and blood coagulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005 Feb;25(2):287-94.
- Van Aelst L, D'Souza-Schorey C. Rho GTPases and signaling networks. *Genes Dev.* 1997 Sep 15;11(18):2295-322.
- Wada H, Mori Y, Kaneko T, Wakita Y, Nakase T, Minamikawa K, Ohiwa M, Tamaki S, Tanigawa M, Kageyama S, et al. Elevated plasma levels of vascular endothelial cell markers in patients with hypercholesterolemia. *Am J Hematol.* 1993 Oct;44(2):112-6.
- Wang CY, Liu PY, Liao JK. Pleiotropic effects of statin therapy: molecular mechanisms and clinical results. *Trends Mol Med.* 2008 Jan;14(1):37-44.
- Wang JS, Neuvonen M, Wen X, Backman JT, Neuvonen PJ. Gemfibrozil inhibits CYP2C8-mediated cerivastatin metabolism in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos.* 2002 Dec;30(12):1352-6.
- Warkentin TE. Hemostasis and atherosclerosis. *Can J Cardiol.* 1995 May;11 Suppl C:29C-34C.
- Wassmann S, Faul A, Hennen B, Scheller B, Böhm M, Nickenig G. Rapid effect of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibition on coronary endothelial function. *Circ Res.* 2003 Oct 31;93(9):e98-103.

- Wassmann S, Laufs U, Bäumer AT, Müller K, Konkol C, Sauer H, Böhm M, Nickenig G. Inhibition of geranylgeranylation reduces angiotensin II-mediated free radical production in vascular smooth muscle cells: involvement of angiotensin AT1 receptor expression and Rac1 GTPase. *Mol Pharmacol*. 2001 Mar;59(3):646-54.
- Westergren T, Johansson P, Molden E. Probable warfarin-simvastatin interaction. *Ann Pharmacother*. 2007 Jul;41(7):1292-5.
- Wienbergen H, Gitt AK, Schiele R, Juenger C, Heer T, Meisenzahl C, Limbourg P, Bossaller C, Senges J; MITRA PLUS Study Group. Comparison of clinical benefits of clopidogrel therapy in patients with acute coronary syndromes taking atorvastatin versus other statin therapies. *Am J Cardiol*. 2003 Aug 1;92(3):285-8.
- Wiesbauer F, Kaun C, Zorn G, Maurer G, Huber K, Wojta J. HMG CoA reductase inhibitors affect the fibrinolytic system of human vascular cells in vitro: a comparative study using different statins. *Br J Pharmacol*. 2002 Jan;135(1):284-92.
- Wilhelmsen L, Svärdsudd K, Korsan-Bengtson K, Larsson B, Welin L, Tibblin G. Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1984 Aug 23;311(8):501-5.
- Wong WW, Dimitroulakos J, Minden MD, Penn LZ. HMG-CoA reductase inhibitors and the malignant cell: the statin family of drugs as triggers of tumor-specific apoptosis. *Leukemia*. 2002 Apr;16(4):508-19.
- Ye Y, Long B, Qian J, Perez-Polo JR, Birnbaum Y. Dipyridamole with low-dose aspirin augments the infarct size-limiting effects of simvastatin. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2010 Dec;24(5-6):391-9.
- Ye Y, Perez-Polo JR, Birnbaum Y. Protecting against ischemia-reperfusion injury: antiplatelet drugs, statins, and their potential interactions. *Ann N Y Acad Sci*. 2010 Oct;1207:76-82.

- Yoshida M, Sawada T, Ishii H, Gerszten RE, Rosenzweig A, Gimbrone MA Jr, Yasukochi Y, Numano F. Hmg-CoA reductase inhibitor modulates monocyte-endothelial cell interaction under physiological flow conditions in vitro: involvement of Rho GTPase-dependent mechanism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001 Jul;21(7):1165-71.
- Yoshida M. Potential role of statins in inflammation and atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.* 2003;10(3):140-4.
- Zambrana JL, Velasco F, Castro P, Concha M, Vallés F, Montilla P, Jiménez-Perepérez JA, López-Miranda J, Pérez-Jiménez F. Comparison of bezafibrate versus lovastatin for lowering plasma insulin, fibrinogen, and plasminogen activator inhibitor-1 concentrations in hyperlipemic heart transplant patients. *Am J Cardiol.* 1997 Oct 1;80(7):836-40.
- Zhou Q, Liao JK. Pleiotropic effects of statins. - Basic research and clinical perspectives -. *Circ J.* 2010 May;74(5):818-26.
- Zhou Q, Liao JK. Statins and cardiovascular diseases: from cholesterol lowering to pleiotropy. *Curr Pharm Des.* 2009;15(5):467-78.