

## TRATAMIENTO

### El futuro de la prevención de las enfermedades cardiovasculares y el papel de la regulación lipídica

MAURIZIO R. SOMA Y RODOLFO PAOLETTI

*Instituto de Ciencias Farmacológicas, Universidad de Milán, Italia.*

**L**a cardiopatía (CAP) sigue siendo el principal problema sanitario de los países desarrollados, en especial en la población mayor. Es probable que la prevención orientada reduzca la morbilidad y la mortalidad por CAP. Las pruebas epidemiológicas y experimentales vinculan las dislipidemias más comunes (especialmente los niveles elevados de colesterol total y LDL o los bajos niveles de colesterol HDL) con el mayor riesgo de desarrollar CAP. La prevención de las CAP supone, además de la corrección de los factores de riesgo, como los lípidos plasmáticos, el control farmacológico directo de los procesos patogénicos que ocurren en la pared arterial. Así pues, la corrección de las alteraciones lipídicas produce un efecto antiaterosclerótico de etapas múltiples sobre la pared del vaso y el sistema de la coagulación. Algunos de esos efectos positivos (es decir, sobre la función endotelial, la proliferación anómala de la célula muscular lisa, la activación de los macrófagos y el sistema de coagulación) pueden en realidad preceder a los cambios beneficiosos ocurridos en la estabilización o regresión, o ambas cosas, de la placa aterosclerótica.

La literatura publicada sobre la biología celular de las paredes de los vasos ateroscleróticos y los posibles mecanismos de afectación lipídica y lipoproteica ha sido explosiva durante el decenio pasado, en términos tanto de número de artículos como de opiniones diferentes. La mayoría de los investigadores coincide en que una o más lipoproteínas que contienen apo-B, nativas o modificadas, son aterogénicas. Además, se acepta en general que las lipoproteínas que contienen Apo-A son antiaterogénicas, bien de una manera causal a través de su papel en el transporte inverso de colesterol o bien indirectamente a causa de su relación negativa con las lipoproteínas ricas en triglicéridos potencialmente aterogénicas y sus remanentes. Una enorme cantidad de pruebas epidemiológicas y experimentales vinculan las dislipidemias más comunes (en especial los niveles eleva-

dos de colesterol LDL y total o los bajos niveles de colesterol HDL) con un mayor riesgo de desarrollo de coronariopatía (CP) [1-4]. En algunos estudios se sugiere que los niveles elevados de triglicéridos plasmáticos están relacionados también con un mayor riesgo de CP, en especial cuando este tipo de dislipidemia está asociada con niveles bajos de colesterol HDL [5]. Hay una buena correlación entre los niveles medios de colesterol en las diferentes naciones o poblaciones y la incidencia de CAP en las mismas comunidades. También se observa una correlación muy estrecha entre la colesterolemia de los individuos dentro de una población y el riesgo individual de acontecimientos coronarios [1-4,6,7]. Las tendencias de los cambios de colesterolemia media dentro de una comunidad tienden a modificar en la misma dirección la incidencia de acontecimientos coronarios mortales y no mortales en 3-5 años [8-16], aunque el cambio absoluto es bastante diferente de una cultura a otra [8]. En un gran número de estudios de prevención primaria y secundaria se ha demostrado que la reducción de colesterol total y LDL reduce el riesgo de CAP mortal y no mortal [9-14]. En varios ensayos clínicos se ha establecido firmemente que la manipulación agresiva y la normalización de los niveles elevados de colesterol total y LDL reduce la progresión de la aterosclerosis [9, 14-16] y aumenta los intervalos libres de enfermedad para la mortalidad general, y la morbilidad y la mortalidad por CAP [17]. Los estudios angiográficos han demostrado también

**Rodolfo Paoletti**  
**Universita de Milano**  
**Facolta di Farmacia**  
**Via Balzaretti, 9**  
**20133 Milano**  
**Italy**

una relación positiva entre la presencia de CAP y el nivel sérico de colesterol total, colesterol LDL y apolipoproteínas (apo) B [18-20].

Las pruebas anatomopatológicas y experimentales de una asociación entre el nivel elevado de colesterol total y LDL, por un lado, y CAP, por otro, pueden resumirse como sigue. El colesterol es un componente constante de las placas ateromatosas, en especial de las placas "blandas", que pueden fisurarse fácilmente, determinando la formación de trombo intraarteriosos, lo que desencadena acontecimientos clínicos [21]. Se ha observado una asociación entre la concentración sérica de lipoproteínas y colesterol, y las etapas precoces de la aterosclerosis en los adultos jóvenes [22-24] y entre los adultos de edad mediana en el caso de las lesiones más avanzadas [25]. En varios modelos animales se ha demostrado que las dietas ricas en colesterol o en ácidos grasos saturados inducen hipercolesterolemia, seguida de la formación de lesiones arteriales similares a las observadas en la aterosclerosis humana precoz [26, 27]. La hipercolesterolemia puede causar disfunciones de la vasoreactividad, es decir, deterioro de la capacidad del endotelio para producir y secretar óxido nítrico, incluso antes de que pueda detectarse la modificación anatómica de la pared del vaso. La alteración endotelial se considera el desencadenante que inicia las secuelas de los acontecimientos que determinan la formación de placas [18, 26]. Por último, la correlación entre las formas genéticas de hipercolesterolemia (como la hipercolesterolemia familiar [28] y la deficiencia familiar de apo B-100 [29,30], y el comienzo precoz de acontecimientos coronarios apoyan sólidamente una relación causal entre la hipercolesterolemia y la CAP.

En 1993, dos diferentes comités, el Programa Educativo Nacional de Estados Unidos (NCEP, ATPII) [9,31] y la Sociedad Europea de Aterosclerosis (EAS) [32,33], publicaron dos documentos sobre la prevención de la CAP a través del control de las dislipidemias basados en la información disponible en esa época. Esos documentos, que, dicho sea de paso, desencadenaron el mayor interés entre la comunidad científica internacional, tienen que ser revisados con ojo crítico a la luz de los resultados de un ensayo clínico publicado recientemente [12]. El principal mensaje que surge de esos dos documentos es el papel central desempeñado por la evaluación clínica de un paciente. Así pues, se cambia el centro de la atención de dirigirse a un factor específico de riesgo a hacerlo sobre una valoración de riesgo individual: se calcula la probabilidad de que un individuo desarrolle un acontecimiento coronario a partir de valoraciones cuantitativas específicas de factores de riesgo múltiples. La evaluación de riesgo individual global debe empezar con los niveles de colesterol plasmáti-

co, puesto que la hipercolesterolemia es un acontecimiento desencadenante de la aterogénesis, y su control es uno de los medios más eficaces de interrumpir o retrasar el comienzo de la CAP. Las diferentes fracciones lipoproteicas tienen papeles diferentes en este proceso; por tanto, su evaluación añade información valiosa al perfil lipídico global de un paciente. Se da gran importancia a los valores de colesterol LDL y colesterol HDL. Así pues, la valoración del factor de riesgo individual global es un abordaje moderno de la dislipidemia. Esto permite a los médicos diseñar a medida de cada sujeto la intensidad de la intervención. Puede pronosticarse que una explicación dicho abordaje obtendrá una reducción significativa de complicaciones clínicas de CAP, reducirá el número de intervenciones, a menudo inútiles, y optimizará la proporción coste/beneficio de la atención sanitaria.

#### Beneficios a largo plazo del tratamiento reductor de lípidos

El metaanálisis de los ensayos aleatorizados, entre ellos de fármacos reductores de colesterol, resinas, fibratos, ácido nicotínico o dieta, tomados en conjunto, ha demostrado una caída de la incidencia global de la CAP con reducción de la hipercolesterolemia [37-39]. Sin embargo, esos antiguos ensayos no tienen efecto discernible sobre la mortalidad total, y se debatían continuamente los beneficios clínicos generales de reducir el colesterol [38,40]. Los desalentadores resultados relativos a la mortalidad total y no cardíaca podían deberse a falta de diseño experimental: a que los ensayos no eran adecuados para la detección de una reducción de la incidencia de fallecimientos por todas las causas; a que los ensayos no eran posiblemente de duración suficiente; al efecto adverso específico del tratamiento (es decir, las hormonas); y a que la reducción del colesterol plasmático alcanzada en esos estudios era demasiado pequeña (sólo del 5-10% como media) para proporcionar pruebas directas fiables del efecto de la reducción del colesterol sobre la mortalidad total.

En un metaanálisis en el que se abordaba la incidencia de la mortalidad por CAP y total en relación con la reducción del colesterol, Holme [39] presentó una relación negativa entre la reducción del colesterol y la mortalidad total. La pendiente de la línea (-0,75%) indicaba que por cada reducción del 1% del colesterol total cabía esperar una reducción asociada del 0,75% de la mortalidad total. Los desalentadores resultados en términos de mortalidad total deben considerarse en el contexto de la muy modesta reducción del colesterol plasmático. El autor concluyó que para obtener una reducción de la mortalidad total en un sólo ensayo, el colesterol plasmático debe reducirse en > 10% [39]. Los

fármacos reductores del colesterol desarrollados más recientemente, los inhibidores de la hidroximetilglutaril CoA reductasa (es decir, la simvastatina, la pravastatina, el lovastatin y la fluvastatina) [34-46], producen reducciones mucho mayores del colesterol total y el LDL de las observadas en los ensayos reductores de colesterol previos. Las estatinas actúan suprimiendo la síntesis de colesterol endógeno en el hígado. Esto desencadena un aumento del número de receptores LDL en las membranas de los hepatocitos y, como consecuencia, promueve la captación hepática de LDL para compensar el déficit. Por consiguiente, las concentraciones plasmáticas de colesterol LDL caen [44]. Estos fármacos proporcionan ahora una oportunidad para valorar directamente los efectos de la reducción del colesterol sanguíneo sobre la mortalidad total y de causa específica, y para determinar qué pacientes obtendrían beneficios clínicos.

El Estudio escandinavo de supervivencia a la simvastatina (4S) [12] recién publicado es el primer ensayo de prevención secundaria a gran escala en evaluar el efecto de un inhibidor de la HMG-CoA reductasa sobre la mortalidad y la morbilidad de los pacientes con CAP. Un total de 4.444 varones y mujeres con edades comprendidas entre 35 y 70 años, con angina o infarto de miocardio previo y colesterol sérico de 212-310 mg/dl recibieron simvastatina o placebo durante 5,4 años. Los datos del ensayo demostraron que una reducción del 25% de las concentraciones plasmáticas de colesterol se tradujeron en un 30% menos de fallecimientos por todas las causas y un 42% menos de muertes coronarias. El impacto de la simvastatina sobre la CAP parece empezar después de alrededor de 1 año de tratamiento y aumenta paulatinamente después. Esto es compatible con los varios estudios angiográficos en los que se demuestran los efectos beneficiosos sobre la aterosclerosis coronaria en el plazo de 2 años de tratamiento lipido-reductor eficaz. El tratamiento farmacológico no tuvo efecto sobre las muertes no cardiovasculares. Este estudio prueba claramente la hipótesis del colesterol y apoya el beneficio y la seguridad de la intervención reductora de colesterol en los pacientes con coronariopatía. Los hallazgos del 4S confirman pues la predicción de Holme [39] de que la CAP y la mortalidad total se verán reducidas por un tratamiento reductor del colesterol eficaz y de que la magnitud del beneficio general está relacionado con el grado de reducción del colesterol conseguida. Un metaanálisis reciente [43] confirmado por el 4S apoya los conceptos de que la reducción del colesterol es beneficiosa y que la mortalidad no-CAP no se ve adversamente afectada por la disminución del colesterol [43].

### Beneficios a corto plazo del tratamiento reductor de lípidos

En varios ensayos arteriográficos aleatorios se ha demostrado que la reducción del colesterol sérico mediante la dieta [47], una cirugía de bypass ileal parcial [48] y la farmacoterapia [14-16] durante un período de 1 ≤ año están asociados un retraso de la progresión y una promoción de la regresión de la placa coronaria. Aunque la regresión sustancial no es habitual y el cambio del tamaño medio de la placa durante o después del tratamiento es pequeño, la frecuencia de acontecimientos coronarios clínicos se reduce de una manera desproporcionada con el grado de cambio anatómico [14-16, 47, 48]. Por consiguiente, puede que mecanismos distintos de la regresión de la estenosis coronaria sean importantes en cuanto al efecto beneficioso de la reducción del colesterol.

Recientemente se ha demostrado una estrecha relación entre las anomalías de los lípidos y la disfunción del endotelio de la arteria coronaria [49-52], lo que puede contribuir a acontecimientos cardíacos isquémicos. Una de las primeras alteraciones del endotelio expuesto a niveles elevados de colesterol es la pérdida del factor relajante derivado del endotelio (EDRF), ahora identificado como óxido nítrico (ON) [51]. Se ha demostrado que el EDRF ejerce una variedad de acciones fisiológicas, además de su bien conocida relajación de las células lisas vasculares, entre las cuales se cuenta la inhibición de la agregación plaquetaria, la atenuación de la adherencia leucocitarias al endotelio y la extinción de los radicales superóxido [51].

En animales de experimentación, la reducción del colesterol sérico o el tratamiento con aceite de pescado mejora la capacidad vasodilatadora mediada por el endotelio de las arterias coronarias en tiempos relativamente cortos [52-55]. Los inhibidores de la HMG-CoA reductasa restauran la función endotelial y mejoran el equilibrio trombótico en los conejos hipercolesterolémicos al reducir eficazmente los niveles de colesterol plasmático [56]. También se ha demostrado una mejora de las respuestas endotelial coronaria microvascular y epicárdica en ensayos clínicos después de 6 meses de tratamiento reductor de lípidos [57,58]. Más recientemente, la reducción del colesterol con lovastatina no demostró efecto después de 12 días, pero mejoró la función endotelial coronaria después de 5,5 meses de tratamiento en pacientes con aterosclerosis [59].

Por tanto, el tratamiento liporreductor puede considerarse parte del armamento farmacológico para el tratamiento de los síndrome coronarios, sobre la hipótesis de que esta clase de tratamiento tiene un notable efecto sobre la regulación del tono arterial coronario que favorece la reducción de la vasoconstricción o mejora la vasodilatación, o ambas cosas [60- 62].

Ha ganado reconocimiento la hipótesis de la importancia del sistema hemostático y la agregación plaquetaria en la predisposición a padecer coronariopatía, o en la participación en su desarrollo. Hemos avanzado mucho en cuanto a nuestra comprensión de los mecanismos que desembocan en la hipercoagulabilidad y el deterioro de la función fibrinolítica. Un desequilibrio del sistema hemostático secundario a un aumento de la actividad coaguladora, un deterioro de la función fibrinolítica o una combinación de ambas, es de gran importancia en el desarrollo de trombosis arterial al influir en el crecimiento y el tamaño final de los trombos que evolucionan. Esto es de particular importancia en la circulación coronaria, donde es probable que un estado hipercoagulable promueva la oclusión trombótica final en el lugar de una placa aterosclerótica súbitamente rota [60]. El reciente artículo publicado por Lacoste y cols. [63] relativo al una reducción del riesgo trombogénico mediante el tratamiento reductor del colesterol proporciona pruebas convincentes de que las propiedades beneficiosas de la terapéutica reductora de lípidos a través de la corrección de la alteración lipídica produce un efecto antiaterosclerótico pleiotrópico. Algunos de esos efectos positivos (es decir, sobre la función endotelial y sobre los factores trombóticos) pueden anteceder a los cambios beneficiosos de estabilización de la placa aterosclerótica o en su regresión, o en ambas cosas.

#### Efectos del tratamiento de corrección lipídica no relacionados con los lípidos

La última observación plantea la hipótesis de que mecanismos distintos de la reducción de los niveles plasmáticos de colesterol podrían ser responsables del resultado positivo obtenido en pacientes sometidos a tratamiento reductor de lípidos. Esto es particularmente evidente para los pacientes sometidos a tratamiento con inhibidores de la HMG-CoA reductasa (estatinas). Dado que el ácido mevalónico (AMV), el producto de la reacción enzimática, es el precursor de numerosos metabolitos, la inhibición de la HMG-CoA reductasa puede tener como consecuencia efectos pleiotrópicos [64-70]. De hecho, el AMV no es sólo precursor del colesterol, sino también de una serie de compuestos isoprenoides no esteroideos esenciales para la actividad celular normal, como el dolicol, el hemo A, la ubiquinona y la isopenteniladenosina [64, 65]. El AMV es también la fuente del grupo o grupos prenil que se modifican covalentemente de un limitado grupo de proteínas que participan en la transducción de la señal y en el control de la proliferación celular [65, 70-74]. Por tanto, otros mecanismos pueden contribuir al efecto antiaterosclerótico beneficioso de los inhibidores de la HMG-CoA reductasa [70,75]. Esta posibilidad se ve apoyada por pruebas experi-

mentales que indican que algunas estatinas puede interferir en importantes acontecimientos implicados en la formación de lesiones ateroscleróticas con independencia de sus propiedades hipocolesterolémicas [76-79]. Dos acontecimientos clave en la cascada aterogénica son la emigración y la proliferación de los miocitos arteriales, y la deposición de lípidos, principalmente ésteres de colesterol, en la pared arterial [26,27, 80-82]. El AMV y los otros intermediarios de la biosíntesis del colesterol (los isoprenoides) son esenciales para esos procesos [67,69,70]; por tanto, es concebible que las estatinas puedan afectar directamente a los principales acontecimientos que ocurren en la pared arterial durante la aterogénesis.

Estudios *in vitro* recientes [69,70] han demostrado que varias estatinas reducen, de forma independiente de la dosis, la migración y la proliferación de las CML, planteando, pues, la posibilidad de que el efecto antiaterosclerótico de los inhibidores de la HMG-CoA reductasa pueda ser mediado, al menos en parte, por un efecto celular directo. Datos preclínicos demostraron que estatinas, aunque con potencias diferentes, reducían la proliferación neointima en conejos normocolesterolémicos sin afectar a los niveles plasmáticos de colesterol [76]. De igual forma, Bocan y cols. [79] no encontraron correlación alguna entre los efectos reductores de lípidos de los varios inhibidores de la HMG-CoA reductasa y su efecto beneficioso sobre la formación de lesión aterosclerótica en los conejos alimentados con colesterol. En conjunto, estos estudios sugieren que las estatinas pueden afectar directamente a la formación de ateroma con independencia de los cambios en los lípidos plasmáticos, probablemente a través de la inhibición local de la actividad HMG-CoA reductasa en células de la pared vascular. De hecho, datos *in vivo* demuestran que el mecanismo que subyace al efecto antiproliferativo de las estatinas está realmente relacionado con la inhibición local de la síntesis de AMV en las CML, ya que la liberación local de AMV evitó por completo el efecto inhibitor de la fluvastatina sistémica [83].

Aunque se han publicado resultados contradictorios en humanos, es infrecuente la replicación de las CML y puede ser episódica [84-89]. Dado que es difícil predecir cuándo podrían ocurrir esos acontecimientos, es probablemente necesario el tratamiento crónico para asegurar la supresión de la replicación en el momento crítico [90]. Por otro lado, la proliferación acelerada de las CML parece ser una causa de oclusión coronaria precoz en los pacientes sometidos a injertos por *bypass* y angioplastia coronaria transluminal (APCT), lo que explica una morbilidad y una mortalidad significativas [82, 85]. Por tanto, las estatinas pueden reducir la incidencia de oclusión coronaria, reduciendo los niveles séricos de colesterol y evitando la proliferación de las CML. Datos recientes

no han conseguido demostrar la eficacia de la lovastatina en la prevención de la APCT [91]; este hallazgo puede relacionarse, sin embargo, con el hecho de que la concentración plasmática alcanzada después del tratamiento con lovastatina no puede ejercer efectos antiproliferativos [92].

Cualquier consideración de aterosclerosis humana no puede negar el papel de los macrófagos en el desarrollo de la placa. La entrada, acumulación y destino de los lípidos y los monocito-macróforos en las primeras fases de la aterogénesis están bien establecidas [26,80,93]. La mayor parte de los lípidos depositados en las lesiones ateroscleróticas derivan de las lipoproteínas plasmáticas. Las LDL, después de experimentar modificación biológica dentro de la pared arterial [93-95], se unen al receptor basurero de los macróforos [96] y entran en las células. La captación de la LDL modificada tiene como consecuencia, después de la degradación lisosómica, la liberación de grandes cantidades de colesterol, que estimula la actividad ACAT, induciendo la acumulación de colesterol esterificado, responsable en última instancia de la formación de células espumosas [97]. La fluvastatina y la simvastatina inhibieron la esterificación del colesterol y la deposición inducida por lipoproteínas acetiladas de baja densidad en macróforos cultivados [67]. El hecho de que el AMV y el geranilgeraniol pudiera evitar por completo la inhibición inducida por simvastatina y fluvastatina de la esterificación del colesterol en los macróforos apoya el papel de la vía del AMV en la formación de células espumosas [67]. La inhibición de la esterificación del colesterol, así como la reducción del contenido total del colesterol de la célula es una probable explicación para la reducción del área de macróforos observada en las lesiones ateroscleróticas de los conejos alimentados con colesterol [79]. Es tentador especular con la idea de que la menor actividad de los macróforos pudiera estabilizar las lesiones ateroscleróticas y hacer menos probable su fisura.

En conjunto, esos resultados sugieren que los inhibidores de la HMG-CoA reductasa ejercen un efecto

antiaterosclerótico directo sobre la pared arterial (más allá de sus efectos sobre los lípidos plasmáticos), probablemente a través de la inhibición local de la biosíntesis isoprenoide.

### Conclusión

Las coronariopatías siguen siendo uno de los principales problemas sanitarios de la sociedad occidental. Es probable que la prevención dirigida reduzca la morbilidad y la mortalidad por CAP. Ahora puede conseguirse la reducción de los niveles elevados de colesterol total y LDL con buena eficacia y seguridad relativa utilizando estatinas.

Gracias al creciente conocimiento de la patogénesis de la aterosclerosis, parece que la prevención de la enfermedad cardiovascular en el futuro implicará, además de la corrección de factores de riesgo del tipo de la concentración elevada de lípidos en plasma, el control farmacológico directo de los procesos que ocurren en la pared arterial. Esos acontecimientos están modulados en gran medida por factores (factores de crecimiento, citocinas, etc.) cuyo balance finamente ajustado se modifica en áreas en las que se están desarrollando la placa aterosclerótica. La terapéutica reductora de lípidos conseguida por cualquier medio (dieta, cirugía, fármacos) puede interferir, con diferente potencia, en varios de esos acontecimientos más allá de su efecto reductor de lípidos. En el caso de los inhibidores de la HMG-CoA reductasa, parece que sus acciones sobre esos procesos están vinculados a la modulación de la vía del mevalonato y podría traducirse en una prevención más significativa de la enfermedad cardiovascular. Por último, la corrección de la alteración lipídica produce un efecto antiaterosclerótico pleiotrópico: en la pared del vaso y en el sistema de la coagulación. Algunos de esos efectos positivos (es decir, sobre la función endotelial, la proliferación de las células musculares lisas, la activación de los macróforos y los factores trombóticos) puede reducir el tiempo transcurrido antes de la aparición de cambios beneficiosos en la estabilización o regresión, o ambas cosas, de la placa aterosclerótica.

### Bibliografía

- Martin MJ, Hulley SB, Browner WS, Kuller LH, Wentworth D. Serum cholesterol, blood pressure, and mortality: implications from a cohort of 361,662 men. *Lancet* 1986; 2: 933-6.
- LaRosa JC, Hunninghake D, Grundy SM, Wilson PW, Clarkson TB, Hay JW. The cholesterol facts. A summary of the evidence relating dietary fats, serum cholesterol, and coronary heart disease. A joint statement by the American Heart Association and the National Heart, Lung and Blood Institute. *Circulation* 1990; 81: 1721-33.
- Neaton JD, Wentworth DF. Serum cholesterol, blood pressure, cigarette smoking, and death from coronary heart disease. Overall findings and differences by age for 316,099 white men. *Arch Intern Med* 1992; 152: 56-63.
- Pekkanen J, Linn S, Heiss G, et al. Ten-year mortality from cardiovascular disease relation to cholesterol level among men with and without preexisting cardiovascular disease. *N Engl J Med* 1990; 322: 1700-7.
- Assmann G, Schulte H. Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerosis coronary artery disease (the PROCAM experience). *Am J Cardiol* 1992;70: 733-7.
- Davey Smith G, Shipley MJ, Marmot MG, Rose G. Plasma cholesterol concentration and mortality. The Witheall study. *JAMA* 1992; 267: 70-6.
- Pekkanen J, Nissinen A, Punsar S, Karvonen MJ. Short- and long-term association of serum cholesterol with mortality: the 25-year follow-up of the Finnish cohorts of the seven countries study. *Am J Epidemiol* 1992; 135: 1251-8.
- Verschuren WMM, Jacobs DR, Bloemberg BPM, et al. Serum total cholesterol and long-term coronary heart disease mortality in different cultures. Twenty-five-year follow-up to the Seven Country Study. *JAMA* 1995; 274: 131-6.

9. National Cholesterol Education Program. Second Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II). *Circulation* 1994; 89: 1333-448.
10. Lipid Research Clinics Program. The Lipid Research Clinics Coronary Prevention Trial results. II. The relationship of reduction in incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering. *JAMA* 1984; 251: 365-74.
11. Frick MH, Elo O, Haapa K, et al. Helsinki Heart Study: primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipoproteinemia. Safety of treatment, changes in risk factors, and incidence of coronary heart disease. *N Engl J Med* 1987; 317: 1237-45.
12. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994; 344: 1383-9.
13. Roussouw JE. The effects of lowering serum cholesterol on coronary heart disease risk. *Med Clin North Am* 1994; 78: 181-95.
14. Brown BG, Zhao X-Q, Sacco DE, Albers JJ. Lipid lowering and plaque regression. New insights into prevention of plaque disruption and clinical events in coronary disease. *Circulation* 1993; 87: 1781-91.
15. Jukema JW, Bruschke AVG, van Boven AJ, et al. Effects of lipid lowering by pravastatin on progression and regression of coronary artery disease in symptomatic men with normal to moderately elevated serum cholesterol levels. The Regression Growth Evaluation Stain Study (REGRESS). *Circulation* 1995; 91: 2528-40.
16. MAAS Investigators Effect of simvastatin on coronary atheroma: the Multicentre Anti-Atheroma Study (MAAS). *Lancet* 1994; 344: 633-8.
17. Buchwald H, Campos CT, Boen JR, Nguyen PA, Williams SE. Disease-free intervals after partial ileal bypass in patients with coronary heart disease and hypercholesterolemia: report from the program on the surgical control of hyperlipidemias (POSCH). *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 351-7.
18. Levine GN, Keaney JF, Vita JA. Cholesterol reduction in cardiovascular disease. Clinical benefits and possible mechanisms. *N Engl J Med* 1995; 332: 512-22.
19. Romm PA, Green CE, Reagan K, Rackley CE. Relation of serum lipoprotein cholesterol levels to presence and severity of angiographic coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1991; 67: 479-83.
20. Dahlen GH, Guyton JR, Attar M, Farmer JA, Kautz JA, Gotto AM Jr. Association of levels of lipoprotein Lp(a), plasma lipids, and other lipoproteins with coronary artery disease documented by angiography. *Circulation* 1986; 74: 758-65.
21. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995; 92: 657-71.
22. Pathobiological Determinant of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. Relationship of atherosclerosis in young men to serum lipoprotein cholesterol concentration and smoking: a preliminary report. *JAMA* 1990; 264: 3018-24.
23. Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. Natural history of aortic and coronary atherosclerotic lesions in youth: findings from the PDAY study. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1291-8.
24. Newman WP III, Freedman DS, Woors AW, et al. Relation of serum lipoprotein levels and systolic blood pressure to early atherosclerosis: the Bogalusa Heart Study. *N Engl J Med* 1986; 314: 138-44.
25. Holme I, Solberg LA, Weissfeld L, et al. Coronary risk factors and their pathway of action through coronary raised lesions, coronary stenoses and coronary death: multivariate statistical analysis of an autopsy series: the Oslo Study. *Am J Cardiol* 1985; 55: 40-7.
26. Ross R. The pathogenesis of arteriosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801-9.
27. Wissler RW. Update on the pathogenesis of atherosclerosis. *Am J Med* 1991; 91: 1B-3S-9S.
28. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986; 232: 34-47.
29. Corsini A, McCarthy BJ, Granata A, et al. Familial defective apo B-100, characterization of an Italian family. *Eur J Clin Invest* 1991; 21: 389-97.
30. Innerarity TL, Mahley RW, Weisgraber KH, et al. Familial defective apolipoprotein B-100: a mutation of apolipoprotein B that causes hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 1990; 31: 1337-49.
31. Expert Panel on Detection E, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Summary of the Second Report of the National Cholesterol Education Program (Adult Treatment Panel II). *JAMA* 1993; 269: 3015-23.
32. EAS Guidelines. International Task Force for the prevention of coronary heart disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1992; 2: 113-56.
33. Pyorala K, De Backer G, Graham I, Poole-Wilson P, Wood D. Prevention of coronary heart disease in clinical practice: recommendations of the Task Force of the European Society for Cardiology, European Atherosclerosis Society and European Society of Hypertension. *Atherosclerosis* 1994; 110: 121-61.
34. Deslypere JP. The role of HMG-CoA reductase inhibitors in the treatment of hyperlipidemia: a review of fluvastatin. *Curr Ther Res* 1995; 56: 111-28.
35. Zavoral JH, Haggerty BJ, Winick AG, Bergmann SD. Efficacy of fluvastatin, a totally synthetic 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor. *Am J Cardiol* 1995; 76: 37A-40A.
36. Bloomfield Rubins H, Robins SJ, Collins D, et al. Distribution of lipids in 8,500 men with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1995; 75: 1196-201.
37. Law MR, Wald NJ, Thompson SG. By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischemic heart disease? *Br Med J* 1994; 308: 367-72.
38. Cucherat M, Bissel J-P. Meta-analysis of results from clinical trials on prevention of coronary heart disease by lipid-lowering interventions. *Clin Trials Meta-Analysis* 1993; 28: 109-29.
39. Holme I. Relation of coronary heart disease incidence and total mortality to plasma cholesterol reduction in randomised trials: use of meta-analysis. *Br Heart J* 1993; 69: S42-7.
40. Oliver MF. Might treatment of hypercholesterolemia increase non-cardiac mortality? *Lancet* 1991; 337: 1529-31.
41. Law MR, Thompson SG, Wald NJ. Assessing possible hazards of reducing serum cholesterol. *Br Med J* 1994; 308: 373-9.
42. Davey Smith G, Pekkanen J. Should there be a moratorium on the use of cholesterol lowering drugs? *Br Med J* 1992; 304: 431-4.
43. Gould AL, Rossouw JE, Santanello NC, Heyse JF, Furberg CD. Cholesterol reduction yields clinical benefits. A new look at old data. *Circulation* 1995; 91: 2274-82.
44. Grundy SM. HMG-CoA reductase inhibitors for treatment of hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 1988; 319: 24-33.
45. Levy RI, Troendle AJ, Fattu JM. A quarter century of drug treatment of dyslipoproteinemia, with a focus on the new HMG-CoA reductase inhibitor fluvastatin. *Circulation* 1993; 87: III-45-53.
46. Blum CB. Comparison of properties of four inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase. *Am J Cardiol* 1994; 73: 3D-11D.
47. Ornish D, Brown SE, Scherwitz LW, Billings JH, Armstrong WT, Ports TA. Can lifestyle changes reverse coronary heart disease? The lifestyle heart trial. *Lancet* 1990; 336: 129-33.
48. Buchwald H, Vargo RL, et al., for the POSCH Group. Effect of partial ileal bypass surgery on mortality and morbidity from coronary heart disease in patients with hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 1990; 323: 946-55.
49. Vita JA, Treasure CB, Nabel EG, et al. Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. *Circulation* 1990; 81: 491-7.
50. Seiler C, Hess OM, Buechi M, Suter TM, Krayenbuehl HP. Influence of serum cholesterol and other coronary risk factors on vasomotion of angiographically normal coronary arteries. *Circulation* 1993; 88: 2139-48.
51. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002-12.
52. Shimokawa H, Vanhoutte PM. Dietary cod liver oil improves endothelium-dependent responses in hypercholesterolemic and atherosclerotic porcine coronary arteries. *Circulation* 1988; 78: 1421-30.
53. Tomita T, Ezaki M, Miwa M, Nakamura K, Inoue Y. Rapid and

- reversible inhibition by low-density lipoprotein of the endothelium-dependent relaxation to hemostatic substances in porcine coronary arteries. *Circ Res* 1990; 66: 18-27.
54. Harrison DG, Armstrong ML, Freiman PC, Heistad DD. Restoration of endothelium-dependent relaxation by dietary treatment of atherosclerosis. *J Clin Invest* 1987; 80: 1801-11.
55. Kuo L, Davis MJ, Cannon S, Chilian WM. Pathophysiological consequences of atherosclerosis extended into the coronary microcirculation: restoration of endothelium-dependent responses by L-arginine. *Circ Res* 1992; 70: 465-76.
56. Osborne JA, Lento PH, Siegfried MR, Stahl GL, Fusman B, Lefer AM. Cardiovascular effects of acute hypercholesterolemia in rabbits. Reversal with lovastatin treatment. *J Clin Invest* 1989; 83: 465-73.
57. Leung W-H, Lau C-P, Wong C-K. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on coronary endothelium-dependent relaxation in hypercholesterolaemic patients. *Lancet* 1993; 341: 1496-500.
58. Egashira K, Hiroka Y, Kai H, et al. Reduction in serum cholesterol with pravastatin improves endothelium-dependent coronary vasomotion in patients with hypercholesterolemia. *Circulation* 1994; 89: 2519-24.
59. Treasure CB, Klein JL, Weintraub WS, et al. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1995; 332: 481-1.
60. Schmieder RE, Schobel HP. Is endothelial dysfunction reversible? *Am J Cardiol* 1995; 76: 117A-21A.
61. Gould KL, Martucci JP, Goldberg DI, et al. Short-term cholesterol lowering decreases size and severity of perfusion abnormalities by positron emission tomography after dipyridamole in patients with coronary artery disease: a potential noninvasive marker of healing coronary endothelium. *Circulation* 1994; 89: 1530-8.
62. Eichstadt HW, Eskotter H, Hoffmann I, Amthauer HW, Weidinger G. Improvement of myocardial perfusion by short-term fluvastatin therapy in coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1995; 76: 122A-5A.
63. Lacoste L, Lam YT, Hung J, Letchacovski G, Solymoss CB, Waters D. Hyperlipidemia and coronary disease. Correction of the increased thrombogenic potential with cholesterol reduction. *Circulation* 1995; 92: 3172-7.
64. Grunler J, Ericsson J, Dallner G. Branch-point reactions in the biosynthesis of cholesterol, diacylglycerol, ubiquinone and prenylated proteins. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1212: 259-77.
65. Goldstein JL, Brown MS. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature* 1990; 343: 425-30.
66. Habenicht AJR, Glomset JA, Ross R. Relation of cholesterol and mevalonic acid to the cell cycle in smooth muscle and Swiss 3T3 cells stimulated to divide by platelet-derived growth factor. *J Biol Chem* 1980; 255: 5134-40.
67. Bernini F, Didoni G, Bonfadini G, Bellosa S, Fumagalli R. Requirement for mevalonate in acetylated LDL induction of cholesterol esterification in macrophages. *Atherosclerosis* 1993; 104: 19-26.
68. Maltese WA, Sheridan KM. Differentiation of neuroblastoma cells induced by an inhibitor of nevalonate synthesis: relation of neurite outgrowth and acetylcholinesterase activity to changes in cell proliferation and blocked isoprenoid synthesis. *J Cell Physiol* 1985; 125: 540-58.
69. Corsini A, Mazzotti M, Raiteri M, et al. Relationship between mevalonate pathway and arterial myocyte proliferation: in vitro studies with inhibitors of HMG-CoA reductase. *Atherosclerosis* 1993; 101: 117-25.
70. Corsini A, Raiteri M, Soma MR, Bernini F, Fumagalli R, Paoletti R. Pathogenesis of atherosclerosis and the role of drug intervention: focus on HMG-CoA reductase inhibitors. *Am J Cardiol* 1995; 76: 21A-8A.
71. Maltese WA. Posttranslational modification of proteins by isoprenoids in mammalian cells. *FASEB J* 1990; 4: 3319-28.
72. Glomset JA, Gelb MH, Farnsworth CC. Prenyl proteins in eukaryotic cells: a new type of membrane anchor. *TIBS* 1990; 15: 139-42.
73. Sinensky M, Lutz RJ. The prenylation of proteins. *Bioessays* 1992; 14: 25-31.
74. Casey PJ. Biochemistry of protein prenylation. *J Lipid Res* 1992; 33: 1731-40.
75. Corsini A, Maggi FM, Capano AL. Pharmacology of competitive inhibitors of HMG-CoA reductase. *Pharm Res* 1995; 31: 9-27.
76. Soma MR, Donetti E, Parolini C, et al. HMG CoA reductase inhibitors: in vivo effects on carotid intimal thickening in normocholesterolemic rabbits. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 571-8.
77. Zhu BQ, Sievers RE, Sun YP, Isenberg WM, Parmley WW. Effect of lovastatin on suppression and regression of atherosclerosis in lipid-fed rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 19: 246-55.
78. Gellman J, Ezekowitz MD, Sarembock IJ, et al. Effect of lovastatin on intimal hyperplasia after balloon angioplasty. A study in an atherosclerotic hypercholesterolemic rabbit. *J Am Coll Cardiol* 1991; 17: 251-9.
79. Bocan TMA, Mazur MJ, Mueller SB, et al. Antiatherosclerotic activity of inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in cholesterol-fed rabbits: a biochemical and morphological evaluation. *Atherosclerosis* 1994; 111: 127-42.
80. Schwartz CJ, Valente AJ, Sprague EA. A modern view of atherogenesis. *Am J Cardiol* 1993; 71: 9B-14B.
81. Cleland JG, Krikler DM. Modification of atherosclerosis by agents that do not lower cholesterol. *Br Heart J* 1993; 69: S54-62.
82. Ip JH, Fuster V, Badimon L, Badimon J, Chesebro JH. Syndromes of accelerated atherosclerosis: role of vascular injury and smooth muscle cell proliferation. *J Am Coll Cardiol* 1990; 15: 1667-87.
83. Soma MR, Parolini C, Donetti E, Fumagalli R, Paoletti R. Inhibition of isoprenoid biosynthesis and arterial smooth muscle cell proliferation. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 25: S20-4.
84. Miller MJ, Kuntz RE, Friedrich SP, et al. Frequency and consequences of intimal hyperplasia in specimens retrieved by directional atherectomy of native primary coronary artery stenoses and subsequent restenoses. *Am J Cardiol* 1993; 71: 652-8.
85. Isner JM, Kearney M, Batters C, et al. Use of human tissue specimens obtained by directional atherectomy to study restenosis. *Trends Cardiovasc Med* 1994; 4: 213-21.
86. O'Brien ER, Alpers CE, Stewart DK, et al. Proliferation in primary and restenotic coronary atherectomy tissue. Implications for antiproliferative therapy. *Circ Res* 1993; 73: 223-31.
87. Katsuda S, Coltrera MD, Ross R, Gowen AM. Human atherosclerosis. IV. Immunocytochemical analysis of cell activation and proliferation in lesions of young adults. *Am J Pathol* 1993; 142: 1787-93.
88. Pickering JG, Weir L, Jekanski J, Kearney MA, Isner JM. Proliferative activity in peripheral and coronary atherosclerotic plaque among patients undergoing percutaneous revascularization. *J Clin Invest* 1993; 91: 1469-80.
89. Gordon D, Reidy MA, Benditt EP, Schwartz SM. Cell proliferation in human coronary arteries. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 4600-4.
90. Jackson CL, Schwartz SM. Pharmacology of smooth muscle cell replication. *Hypertension* 1992; 20: 713-36.
91. Weintraub WS, Boccuzzi SJ, Klein JL, et al. Lack of effect of lovastatin on restenosis after coronary angioplasty. *N Engl J Med* 1994; 331: 1331-7.
92. Duggan DE, Chen IW, Bayne WF, et al. The physiological disposition of lovastatin. *Drug Metab Dispos* 1989; 17: 166-73.
93. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew T, Khoo J, Witztum J. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989; 320: 915-24.
94. Heinecke JW. Cellular mechanisms for the oxidative modification of lipoprotein implications for atherogenesis. *Coron Artery Dis* 1994; 5: 205-10.
95. Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low-density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 1991; 88: 1785-92.
96. Kodama T, Reddy P, Kishimoto C, Krieger M. Purification and characterization of a bovine acetyl low density lipoprotein receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 9238-42.
97. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu Rev Biochem* 1983; 52: 223-61.