

USO DE ESTATINAS EN BIOMODELOS EXPERIMENTALES DE ARTERIOSCLEROSIS

Use of statins in atherosclerosis animal models

Ortega J.V.¹, Ayala I.^{2*}, García Pérez B.³, Sánchez Polo M^aT^a.³, Castells M^a.T.⁴

1. Hospital «Los Arcos», Santiago de la Ribera, Murcia.

2. Dpto. Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo, s/n, Murcia 30100.

3. Hospital «Virgen de la Arrixaca», El Palmar, Murcia.

4. Dpto. Biología Celular, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia.

* Autor de referencia: iayape@um.es

RESUMEN

Desde principios del siglo XX se ha intentado con distintos modelos experimentales y distintos fármacos disminuir los eventos cardiovasculares disminuyendo los factores de riesgo y las lesiones asociadas a éstos en aorta y arterias coronarias. Se han utilizado distintos fármacos y preparados aunque el descubrimiento que marcó el inicio de la verdadera reducción de los eventos cardiovasculares fue la incorporación de las «Estatinas», que son inhibidores de la HidroxiMetilGlutaril-CoA reductasa (HMG-CoAr), un enzima limitante en la síntesis del colesterol. Como se refleja en esta revisión, se han conseguido reducciones significativas tanto en cuánto a los niveles de lípidos en sangre como en las lesiones arteriosclerosas en aorta y arterias coronarias con los distintos fármacos y en distintos modelos experimentales, todos ellos extrapolados al ser humano y comprobados científicamente en éste.

Palabras clave: estatinas, modelos animales, arteriosclerosis.

ABSTRACT

Animals have been used as experimental models in atherosclerosis-related research since the turn of the past century. Several drugs have been proved in order to reduce coronary events, risk factors and associated vascular lesions in aorta and coronary arteries. Statins, inhibitors of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase, are highly potent cholesterol-lowering agents. The therapeutic potential of these drugs has been experimentally studied in several atherosclerosis animal models, showing reductions in plasmatic cholesterol levels and atherosclerotic lesions of aorta and coronary arteries. Furthermore, these effects have been also proved in humans.

Key words: statins, animal models, atherosclerosis.

INTRODUCCIÓN

La aterosclerosis fue inducida en animales a principios del siglo XX en conejos observando cambios estructurales en la pared de las aortas de algunos animales consistentes en un engrosamiento de la íntima con formación de grandes células claras, semejantes a las lesiones de las arterias de los humanos, aunque no fue hasta 1912, cuando Anitschkow y Chalataw, obtuvieron lesiones semejantes con una dieta de colesterol puro disuelto en aceite vegetal (Anitschkow y Chalataw, 1912). Durante muchos años el interés estuvo centrado en el estudio de las modificaciones que se producían en el desarrollo de la arteriosclerosis por diversas manipulaciones, que incluían cambios en la dieta o la agregación a la misma de determinados aminoácidos, aniones o preparados hormonales, recogidos en el libro «Experimental Atherosclerosis», publicado en 1953, donde se resumen los conocimientos acumulados a lo largo de este periodo (Katz y Stamler, 1953).

Desde entonces, ha supuesto un problema encontrar un modelo adecuado para evaluar la eficacia de un régimen antiaterogénico, aún existiendo la aterosclerosis en una gran variedad de animales, especialmente cuando se mantiene una dieta rica en colesterol o ácidos grasos (Gresham, 1983).

ESTUDIOS CON ESTATINAS

Lovastatina

La Ville et al. (1989) estudiaron el efecto de la lovastatina en conejos hiperlipémicos observando una disminución de los niveles de colesterol sérico del 60 % respecto al grupo control a expensas sobre todo de LDL colesterol (LDL-c) e IDL colesterol (IDL-c) y una disminución en la extensión de las lesiones en el grupo tratado respecto al control, con lo que demostró que las estatinas pueden ser útiles en la prevención primaria, al menos en esta estirpe de conejos.

Senaratne et al. (1991) en conejos de la raza New Zealand alimentados con una dieta enriquecida en colesterol al 2 %, estudiaron el efecto de la lovastatina a dosis de 4 mg/Kg/día durante 4 semanas. A las dos semanas los niveles de colesterol sérico se redujeron significativamente en los grupos tratados con fármaco. Los niveles de colesterol en aorta también estaban disminuidos y se producía una mejor respuesta a la administración de acetilcolina. La respuesta a la adrenalina y al nitrito sódico no ofreció diferencias entre los grupos de animales (Senaratne et al., 1991).

En conejos alimentados con una dieta enriquecida con colesterol al 0.3% durante diez semanas, Zhu et al. (1992) estudiaron el efecto de la lovastatina en la supresión y regresión de la arteriosclerosis. En la fase de progresión las lesiones en aorta disminuyeron un 8 % en el grupo de 10 mg de lovastatina, y del 9 % en el grupo de 20 mg. En arteria pulmonar la disminución fue del 10 y del 4 % respectivamente. En la fase de regresión la reducción fue más notable, en aorta disminuyeron en un 27 % con 10 mg y un 20 % con 20 mg. En arteria pulmonar se obtuvieron reducciones de un 21 % y 17 % respectivamente.

En hámsters se investigó el efecto de la lovastatina en el perfil lipoproteico y la extensión de las lesiones de arteriosclerosis encontrando diferencias significativas en cuanto a la cantidad de células espumosas en las paredes arteriales con lo que se demuestra el poder preventivo primario de la lovastatina (Otto et al., 1995).

En esta misma raza, con una dieta suplementada con 0.05 % de colesterol y 25 mg / Kg / día de lovastatina, se pudo observar una disminución significativa de células espumosas en las placas de ateroma y del índice de regulación (up-regulation) en los receptores de LDL y del RNAm de la HMG-CoA reductasa en hígado y en intestino, en el grupo de fármaco (Pitman et al., 1998).

Chen et al. (1997), realizaron un estudio en conejos alimentados con un suplemento del 1 %

de colesterol administrándoles durante 12 semanas lovastatina, vitamina E y amlodipino. Se midieron las placas de ateroma por planimetría y por área de sudanofilia. Al mismo tiempo se midieron como indicadores de peroxidación de lípidos y poder antioxidante, el malondialdehído y la superóxido dismutasa, respectivamente. Se obtuvieron diferencias significativas en los tres grupos de fármacos. Existía una reducción significativa en cuanto a la oxidación de los lípidos (niveles de malondialdehído) y un aumento del poder reductor en los tres grupos (niveles de superóxido dismutasa). Con este estudio se puede sugerir que el poder antiaterogénico de dichos fármacos se debe en parte a su poder antioxidante.

Pravastatina

Khachadurian et al. (1991) estudiaron en conejos el efecto de la pravastatina durante un periodo de 6 y 12 meses. Los animales se sacrificaron a los 6 y 12 meses de inicio del tratamiento y se midieron los niveles de colesterol, triglicéridos en sangre, y el colesterol y la hidroxiprolina en aorta. Los niveles de colesterol disminuyeron a 23 % y 32 % a los 6 y 12 meses respectivamente en el grupo de pravastatina. El contenido de colesterol en aorta disminuyó un 55 % a los 6 meses y un 44 % a los 12 meses, con una reducción del área de placa de ateroma en un 35 y un 26 % a los 6 y 12 meses respectivamente respecto al control.

En 1993, se realizó un ensayo también en conejos, que además de datos morfométricos llevaba a cabo estudios de la función endotelial en arterias coronarias en corazones aislados y en anillos de aorta abdominal distal consiguiendo una disminución del 51 % de colesterol sérico y una disminución de la incidencia de placas de ateroma en el grupo tratado con pravastatina, aunque no se observaron variaciones en la respuesta a la relajación con metacolina (Kron et al., 1993).

Shiomi et al. (1995) observaron una disminución del 22 % del colesterol LDL en conejos

tratados con pravastatina durante 48 semanas, 26 % de reducción en la superficie de la lesión y un 30 % de adelgazamiento de la íntima en aorta abdominal. La estenosis coronaria se disminuyó en un 29 % y disminuyeron un 32 % la cantidad de macrófagos que componían las placas de ateroma en aorta y un 45 % en arterias coronarias.

Harsch et al. (1997) consiguieron en conejos alimentados con una dieta enriquecida con colesterol al 0.03 % y con pravastatina reducciones del colesterol de hasta el 47 % y disminuciones de placa de ateroma en aorta del 78 %. En cuanto a la composición de las placas observaron una disminución del 44 % de la necrosis intraplaca y un aumento de la células musculares lisas del 19 %.

Sakai et al. (1997) estudiaron el efecto de la pravastatina y la simvastatina en el crecimiento y estimulación de los macrófagos sometidos al estímulo de las LDL oxidadas. Se pudo comprobar que las dos estatinas producían una disminución del crecimiento de las células espumosas y una disminución de la activación de los macrófagos al cultivarlos junto con las LDL oxidadas.

En monos, se estudió el efecto de la pravastatina asociada a una dieta baja en lípidos. Los resultados angiográficos revelaron que las arterias de los monos alimentados con la dieta más el fármaco producían una dilatación, mientras que en las arterias de los monos control (sólo alimentados con la dieta) revelaban una contracción, ante el estímulo de la acetilcolina. Histológicamente se observó que las placas de las arterias de los monos a los que se les suministró el fármaco tenían menos infiltrado macrofágico, menos calcificaciones y menos neovascularización de la íntima. Con estos resultados concluyeron el efecto beneficioso de este inhibidor de la HMG-CoAr en cuanto a la estabilización de la placa (Williams et al., 1998).

Un estudio comparativo entre un inhibidor de la HMG-CoAr (pravastatina) y un IECA (inhibidores del enzima de conversión de angio-

tensina, captopril) se realizó en hámster durante un periodo de 8 semanas (Kowala et al., 1998), concluyendo que los dos fármacos producen una potenciación y una sumación de los efectos sobre todo en cuanto a la proliferación celular y la aparición de la estria grasa. El colesterol disminuyó un 49 % y los triglicéridos un 84 %. En el cayado de la aorta, disminuyó la proliferación de células espumosas y el área de estria grasa un 38 y 67 % respectivamente.

La asociación de un IECA y una estatina también ha sido estudiada en pollos infectados con el virus de la enfermedad de Marek, observando una disminución en el área de la placa arteriosclerosa (Lucas et al., 1998).

Simvastatina

Otro inhibidor de la HMG-CoA reductasa, la simvastatina, fue estudiada en un modelo de conejos homocigotos y heterocigotos (Dowell et al., 1995). Se valoró la respuesta contráctil a la fenilefrina y la relajación dependiente del endotelio en respuesta al carbacol en aorta torácica a los 3, 6, 9, 12 meses. Tras administrar 10 mg/Kg/día de simvastatina se redujeron los niveles de colesterol sérico en los jóvenes heterocigotos. La respuesta contráctil disminuyó progresivamente con la edad en todos los grupos aunque en el grupo tratado farmacológicamente se produjo una menor pérdida. La respuesta a la relajación, sin embargo, no se afectó con la edad.

Fluvastatina

Shiomi et al. (1998) estudiaron el efecto de la fluvastatina en las células musculares lisas de las placas de arteriosclerosis de conejos. Durante 32 semanas, se les administraron dosis de 50 mg/Kg/día de fluvastatina a conejos de la raza WHHL. Se produjo una disminución del 34 % del colesterol sérico total, 72 % de las VLDL, 63 % de las IDL y un 25 % de las LDL, sin comprobarse diferencias en el área de superficie de la placa, aunque sí una disminución del en-

grosamiento de la íntima. Se produjo una disminución del área relativa de células musculares lisas, colágeno y depósitos de lípidos extracelulares en el grupo tratado.

Cerivastatina

Uno de los últimos inhibidores descubiertos de la HMG-CoA reductasa es la cerivastatina. La cerivastatina tiene una alta actividad tanto in vitro como in vivo. En ratas y perros alcanza su ED₅₀ a 0.002 mg/Kg mientras que la lovastatina lo hace a 0.3 mg/Kg, con una gran selectividad por el tejido hepático. En el intestino delgado y en testículo, tiene la concentración muy poco efecto con la dosis oral necesaria para llegar al ED₅₀, lo cuál hace referencia a su selectividad. En perros disminuye las cifras de colesterol en un 59 % con dosis de 0.1 mg/Kg/d durante 20 días. Los triglicéridos se redujeron en un 53 y 76 % con dosis de 0.03 y 0.1 mg/Kg/d respectivamente. Hubo una disminución de LDL-c en un 75 % en perros con dosis de 0.1 mg. La ratio ^{HDL-c}/_{LDL-c} aumentó en un 81 % respecto al 14 % del control. El efecto antiaterogénico de la cerivastatina se muestra en conejos alimentados con dieta enriquecida con 0.2 % de colesterol y después de 9 semanas administrando 0.1 mg/Kg/d de cerivastatina, disminuyen los esteres de colesterol en la pared arterial en un 73% (Bischoff et al., 1997).

Es de destacar un estudio en conejos WHHL (conejos Watanabe con hiperlipidemia hereditaria) tratados con cerivastatina (Shiomi e Ito, 1999). Se administró 0.6 mg/Kg/d de cerivastatina a conejos de 2 meses de edad, durante un periodo de 32 semanas. Se midieron los niveles de lípidos en sangre, la severidad de las lesiones de arteriosclerosis y los componentes de la placa. El colesterol disminuyó en un 39 % en el grupo tratado, con una supresión de la arteriosclerosis en un 37 % medido en el grosor de la pared de aorta así como una disminución en los porcentajes de celularidad de la placa en cuanto a macrófagos, lípidos extracelulares en aorta y coronarias.

Atorvastatina

Bocan et al. (1994) estudiaron el papel de cuatro inhibidores de la HMG-CoA reductasa en conejos alimentados con una dieta aterogénica. A cada grupo se le administraron dosis de 2.5 mg./Kg. de atorvastatina, simvastatina, lovastatina y pravastatina, respectivamente. Al término de las 8 semanas se pudo comprobar que disminuyó el colesterol sérico del 27 al 60% y de los niveles de VLDL de 31 a 71 %, aunque no se correlacionaron con los parámetros vasculares. El único fármaco que disminuyó el tamaño de la lesión iliofemoral fue la atorvastatina en un 67 %, disminuyendo además la cantidad de colesterol en aorta torácica en un 45 %, las VLDL en un 59 %; aumentó el LDL-c en un 28 % y no modificó el HDL-c; los esteres de colesterol disminuyeron un 24 % en iliofemoral y 55 % en torácica y el contenido de monocitos-macrófagos en 72 %. El resto de estatinas produjeron en menor medida disminución de los parámetros medidos por lo que se concluyó la poca influencia del efecto clase de los inhibidores de la HMGCoAr respecto a los cambios arteriosclerosos.

Auerbach et al. (1995) realizaron un ensayo experimental en conejos alimentados con una dieta suplementada con caseína, observando una reducción del colesterol total de 38, 45, 54 % a dosis de 1, 3, 10 mg./ Kg/ día de atorvastatina. A dosis de 3 mg, la atorvastatina produjo disminución del LDL-c del 5.3 %, VLDL del 17 % y aumento del HDL-c en 131 %. La lovastatina, sin embargo, produjo una menor reducción de los niveles lipídicos.

Krause y Newton (1995) realizaron un ensayo clínico con 3 especies de animales (cobayas, ratas, conejos) administrándoles los fármacos durante dos semanas. Se utilizaron atorvastatina y lovastatina en dosis que variaban de 1 a 100 mg./ kg., midiéndose los niveles de triglicéridos, colesterol y apolipoproteína B (Apo B). En ratas se obtuvieron solamente diferencias significativas a dosis altas y sólo en la reducción de

triglicéridos, no en las de colesterol ni de Apo B. En cobayas la atorvastatina disminuyó los triglicéridos con diferencias significativas a dosis de 3, 10 y 30 mg/Kg. Sin embargo la lovastatina no obtuvo resultados significativos. En conejos se produjo una disminución de colesterol de un 26 y 47 % con dosis de atorvastatina de 12.5 y 25 mg./Kg., mientras que para producir la misma reducción se necesitó el doble de dosis de lovastatina.

Alfon et al. (1996) administraron a conejos alimentados con una dieta suplementada con colesterol al 0.5 %, una dosis de atorvastatina y simvastatina de 2.5 mg./Kg. durante 10 semanas. Solamente con la administración de atorvastatina se produjeron diferencias significativas respecto al grupo control, con una disminución del 34 % del colesterol total, 20 % del daño subendotelial y 3.6 % del depósito en la media.

Donetti y colaboradores (1997) administraron durante dos semanas 10 mg / Kg. de atorvastatina, simvastatina y pravastatina, a conejos normolipémicos e hiperlipémicos observando que existía una reducción con las tres estatinas en cuanto a la migración y a la proliferación de las células musculares lisas, aunque con atorvastatina la ratio $\frac{INTIMA}{MEDIA}$ disminuyó en 44 % en normocolesterolémicos y en 56 % en hipercolesterolémicos, con lo que se pudo comprobar que las estatinas deben de producir directamente una protección de la pared arterial por mecanismos distintos a la bajada de colesterol y lipoproteínas. Ese mismo año, Bocan et al. (1998) comprobaron en conejos una disminución del colesterol del 43 % en los conejos tratados con atorvastatina, del 47 % en VLDL y del 50 % en LDL, sin que se produjeran cambios en los porcentajes de distribución de las distintas lipoproteínas; y disminución del contenido de ésteres de colesterol en aorta torácica y bifurcación ilio - femoral en un 27 y 41 % respectivamente; las lesiones ilio - femorales y el área macrofágica (infiltración) se produjeron disminuciones del 48 y 67 % respectivamente.

Sin embargo, no se redujo la extensión de las lesiones en aorta torácica ni la placa fibrosa en la zona ilio-femoral. Se pudo comprobar que los dos tipos de fármacos, el inhibidor de la HMGCoAr (atorvastatina) y un inhibidor de la ACAT (Acil-coenzima A Colesterol Acil Transferasa, CI-976), tienen acciones sinérgicas en cuanto a la disminución de los lípidos séricos y las lesiones arteriales.

Burnett et al. (1997) estudiaron el efecto de la atorvastatina en cerdos miniatura alimentados con una dieta aterogénica durante tres semanas con 0.1 % de colesterol y con 3 mg /Kg de atorvastatina. Se consiguieron reducir los niveles de colesterol total en un 16 %, LDL colesterol en un 31 %, triglicéridos en un 19 % y VLDL triglicéridos en un 28 %. Se redujeron los niveles de Apo B 26 % y del 30 % para VLDL y LDL respectivamente. El RNAm de la Apo B en células hepáticas disminuyó en un 13 % sin afectarse los RNAm de los receptores de LDL lo que demuestra que la disminución de las concentraciones de Apo B es debida a una disminución en la secreción de ésta y no tanto a un aumento en el número de receptores de LDL hepáticos.

Hernandez-Presa et al. (1997), utilizando el modelo arteriosclerótico en conejos durante 4 semanas y administrando atorvastatina a dosis de 5 mg / Kg, consiguieron disminuciones de colesterol total del 60 %, LDL-c del 40 % y de triglicéridos del 50 %. Además observaron una disminución del 60 % del cociente íntima/media de la lesión arteriosclerosa con una disminución de la infiltración macrofágica de dicha lesión. También se redujo la expresión del NF-kB (factor nuclear kB), y del receptor macrofágico MCP-1.

Maeso et al. (1997) investigaron la respuesta del endotelio a estímulos como la acetilcolina, epinefrina, angiotensina II, y la respuesta vasodilatadora a la acetilcolina bajo la presencia de inhibidores del óxido nítrico. Utilizaron el modelo de conejos aterogénico con 2.5 mg / Kg de atorvastatina durante un periodo de nue-

ve semanas. Obtuvieron reducciones significativas de los niveles lipídicos y comprobaron una disminución de respuesta relajante tras el estímulo con acetilcolina. La respuesta a la angiotensina II y a la epinefrina no sufrió cambios en los distintos grupos. En este estudio se pudo comprobar que posiblemente la atorvastatina reduce la disfunción endotelial posiblemente por acción sobre el óxido nítrico y los factores contráctiles dependientes del endotelio.

Elkin et al. (1997) observaron en gallinas de la raza Leghorn disminuciones en los niveles de colesterol y triglicéridos en plasma de un 63 y 71 % respectivamente, administrando atorvastatina. El colesterol total en los huevos se redujo en un 47 %. Se observó una mayor reducción utilizando dosis de 60 que con dosis de 30 mg. La respuesta fue mayor con atorvastatina que con simvastatina y ésta mayor que con lovastatina.

Ortega et al. (2002) demostraron que la atorvastatina a dosis de 3 mg/kg/día administrada a pollos alimentados con una dieta a base de huevos (García Pérez et al., 2003), producía una reducción significativa de los niveles de colesterol sérico y LDLc asociado a una disminución del 67 % del área relativa de placa arteriosclerosa en aorta respecto al grupo control.

Dixon et al. (2002) demostraron que la atorvastatina puede producir sus efectos antiaterogénicos directamente sobre el lecho vascular, independientemente de la alteración que puede producir sobre el perfil lipídico y el efecto sobre la composición de las lipoproteínas séricas.

Xu et al. (2002) demostraron el efecto de la atorvastatina y mevastatina en la reducción de la proliferación de células musculares lisas y la expresión del receptor de la endotelina A en cultivos celulares de aorta y arterias cerebrales de ratas.

Sukhova et al. (2002) demostraron en monos una reducción de los niveles de colesterol sérico asociado a una disminución en los parámetros inflamatorios (macrófagos, células musculares lisas, contenido de colágeno) y a una

mayor estabilidad de la placa de arteriosclerosis.

Oubina et al. (2003) demostraron el efecto sumatorio de un inhibidor del enzima de conversión de la angiotensina (quinalapril) y de una estatina (atorvastatina) sobre el incremento de los niveles de los marcadores inflamatorios producidos por la arteriosclerosis, produciendo un efecto beneficioso en la estructura y función vascular así como en el balance fibrinolítico en la arteriosclerosis en conejos.

Como conclusión, destacar como demuestran todos los autores citados, el efecto beneficioso de las estatinas en cuánto a la reducción de la arteriosclerosis valorada según diversos parámetros, tanto en la disminución de los niveles lipídicos con su consiguiente efecto beneficioso directo sobre la reducción de los posibles eventos coronarios, así como una disminución de diversos parámetros inflamatorios y los efectos directos de las estatinas sobre la placa arteriosclerosa. Todo esto apoya la teoría multifactorial de la arteriosclerosis y los efectos beneficiosos directos e indirectos de los inhibidores de la HMG-CoA reductasa. Queda también de manifiesto, la gran importancia de los biomodelos animales en la experimentación en arteriosclerosis, con resultados en muchos casos superponibles a los humanos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte de una línea de investigación financiada por la Fundación Séneca (referencia PI-7/00785/FS/01). Agradecemos la colaboración de las empresas Hijos de Juan Pujante S.A. y Avícola Levantina S.A., así como del veterinario de las mismas, Dr. D. Juan Pablo Pérez Ruzafa.

BIBLIOGRAFÍA

- Alfon J., Pueyo Palazon C., Royo T., Badimon L. 1999. Effects of statins in thrombosis and aortic lesion development in a dyslipemic rabbit model. *Thromb. Haemost.* 81 (5): 822-827.
- Anitschkow N., Chalataw A. 1913. Über experimentelle Cholesterin-statose und ihre Bedeutung für die Entstehung einiger pathologischer Prozesse. *Zentralbl. Allgem. Pathol. Anat.* 14: 1-9.
- Auerbach B.J., Krause B.R., Bisgaier C.L., Newton R.S. 1995. Comparative effects of HMG-CoA reductase inhibitors on apo B production in the casein-fed rabbit: atorvastatin versus lovastatin. *Atherosclerosis* 115(2): 173-180.
- Bischoff H., Angerbauer R., Bender J., Bischoff E., Faggiotto A., Petzinna D., Pfützner J., Porter M.C., Schmidt D., Thomas G. 1997. Cerivastatin: pharmacology of a novel synthetic and highly active HMG-CoA reductase inhibitor. *Atherosclerosis* 135(1): 119-130.
- Bocan T.M., Mazur M.J., Mueller S.B., Brown E.Q., Sliskovic D.R., O'Brien P.M., Creswell M.W., Lee H., Uhlendorf P.D., Roth B.D. 1994. Antiatherosclerotic activity of inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in cholesterol-fed rabbits: a biochemical and morphological evaluation. *Atherosclerosis* 111(1): 127-142.
- Bocan T.M.A., Mueller S.B., Brown E.Q., Lee P., Bocan M.J., Rea T., Pape M.E. 1998. HMG-CoA reductase and ACAT inhibitors act synergistically to lower plasma cholesterol and limit atherosclerotic lesion development in the cholesterol-fed rabbit. *Atherosclerosis* 139(1): 21-30.
- Burnett J.R., Wilcox L.J., Telford D.E., Kleinstiver S.J., Hugh P., Barrett P., Newton R.S., Huff M.W. 1997. Inhibition of HMG-CoA reductase by atorvastatin decreases both VLDL and LDL apolipoprotein B production in miniature pigs. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 17(11): 2589-2600.
- Chen L., Haught W.H., Yang B., Saldeen T.G., Parathasarathy S., Mehta J.L. 1997. Preservation of endogenous antioxidant activity and inhibition of lipid peroxidation as common

- mechanisms of antiatherosclerotic effects of vitamin E, lovastatin and amlodipine. *J. Am. Coll. Cardiol.* 30(2): 569-575.
- Dixon J.L., Shen S., Vuchetich J.P., Wysocka E., Sun Sturek M. 2002. Increased atherosclerosis in diabetic dyslipidemic swine: protection by atorvastatin involves decreased VLDL triglycerides but minimal effect on the lipoprotein profile. *J. Lipid Res.* 43(10): 1618-1629.
- Donetti E., Piliago T., Raule G., Mewton R., Calore M., Paoletti R., Fumagalli R., Soma M.R. 1997. Pharmacological modulation of neointimal hyperplasia in hyper and normocholesterolemic rabbits: A comparison among different HMG-CoA reductase inhibitors. 11th International Symposium on Atherosclerosis, Paris, pp 34-48.
- Dowell F.J., Hamilton C.A., Lindop G.B., Reid J.L. 1995. Development and progression of atherosclerosis in aorta from heterozygous and homozygous WHHL rabbits. Effects of simvastatin treatment. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 15(8): 1152-1160.
- Elkin R.G., Yan Z., Buhman K.K., Story J.A., Turek J.J., Anderson M., Homan R., Newton R.S. 1997. Reduction of egg yolk cholesterol content through inhibition of hepatic cholesterol biosynthesis and alteration of plasma VLDL composition in laying hens: comparative effects of atorvastatin, lovastatin, and simvastatin. *Atherosclerosis* 134: 123-132.
- García Pérez, B., Ayala, I., Castells, M.T., Madrid, J.F., Ortega, M.R., Ortega, J.V., Ballesta, J., Fernández Pardo, J., Valdés, M. 2003. Planimetric and histological study of the aortae in atherosclerotic chickens treated with nifedipine, verapamil and diltiazem. *Histol. Histopathol.* 18: 1027-1033.
- Gresham G.A. 1983. Animal models of atherosclerosis. *An Integrated View on Atherosclerosis.* Plenum Press New York. 58: 241-245.
- Harsch M., Braesen J.H., Niendorf A. 1997. Effects of low-dose pravastatin sodium on plasma cholesterol levels and aortic atherosclerosis of heterozygous WHHL rabbits fed a low cholesterol (0.03%) enriched diet for one year. *Atherosclerosis* 128 (2): 139-147.
- Hernández-Presa M.A., Bustos C., Ortego M., Tunon J., Guijarro C., Diaz C., Hernández G., Egido J. 1996. Atorvastatin abolishes macrophage infiltration, and reduces neointimal formation and MCP-1 expression in a rabbit model of atherosclerosis. Role of nuclear factor Kappa-B. *Circulation* 94: 1-9.
- Katz L.N., Stamler J. 1953. *Experimental atherosclerosis.* Ed. Charles C. Thomas. Springfield. 354 pp.
- Khachadurian A.K., Shimamura T., Rozovski S.J., Ananthakrishnan R., Armenian B., Coly E., Halinai A., Martucci C., Schneider S.H., Amorosa L.F. 1991. Pravastatin decreases serum lipids and vascular cholesterol deposition in Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL) rabbits. *Japan. Heart J.* 32(5): 675-685.
- Kowala M.C., Valentine M., Recce R., Beyer S., Goller N., Durham S., Aberg G. 1998. Enhanced reduction of atherosclerosis in hamsters treated with pravastatin and captopril: ACE inhibition provides cellular targets for captopril. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 32(1): 29-38.
- Krause B.R., Newton R.S. 1995. Lipid-lowering activity of atorvastatin and lovastatin in rodent species: triglyceride-lowering in rats correlates with efficacy in LDL animal models. *Atherosclerosis* 117(2): 237-244.
- Kroon A.A., Stalenhoef A.F., Buikema H., Demacker P.N., de Wilde P.C., Leijten P.A., van Gilst W.H. 1993. The effect of cholesterol reduction on the endothelial function and progression of atherosclerosis in WHHL rabbits. *Atherosclerosis* 103(2): 221-230.
- La Ville A.E., Seddon A.M., Shaikh M., Rowles P.M., Woolf N., Lewis B. 1989. Primary prevention of atherosclerosis by lovastatin in a genetically hyperlipidaemic rabbit strain. *Atherosclerosis* 78(2-3): 205-210.

- Lucas A., Dai E., Liu L.Y., Nation P.N. 1998. Atherosclerosis in Marek's disease virus infected hypercholesterolemic roosters is reduced by HMGCoA reductase and ACE inhibitor therapy. *Cardiovasc. Res.* 38(1): 237-246.
- Maeso R., Aragoncillo P., Navarro-Cid J., Ruilope L.M., Diaz C., Hernandez G., Lahera V., Cachafeiro V. 2000. Atorvastatin reduces endothelium-dependent constrictor factors in dyslipemic rabbits. *Gen. Pharmacol.* 34(4): 263-272.
- Ortega J.V., García Pérez B., Fernández Pardo J., Castells M.T., Escobar S., Valdés M. 2002. Efecto antiaterogénico de la atorvastatina en pollos alimentados con una dieta rica en colesterol. *Clin. Invest. Arterioscl.* 14(5): 225-229.
- Otto J., Ordovas J.M., Smith D., van Dongen D., Nicolosi R.J., Schaefer E.J. 1995. Lovastatin inhibits diet induced atherosclerosis in F1B golden Syrian hamsters. *Atherosclerosis* 114(1): 19-28.
- Oubina M.P., de las Heras N., Cediel E., Sanz-Rosa D., Arangocillo P., Diaz C., Hernandez G., Lahera V., Cachafeiro V. 2003. Synergistic effect of angiotensin-converting enzyme (ACE) and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase inhibition on inflammatory markers in atherosclerotic rabbits. *Clin. Sci. (London)*. 105(6): 665-662.
- Pitman W.A., Osgood D.P., Smith D., Schaefer E.J., Ordovas J.M. 1998. The effects of diet and lovastatin on regression of fatty streak lesions and on hepatic and intestinal mRNA levels for the LDL receptor and HMG CoA reductase in F1B hamsters. *Atherosclerosis* 138(1): 43-52.
- Sakai M., Kobori S., Matsumura T., Biwa T., Sato Y., Takemura T., Hatasmata H., Horiuchi S., Shichiri M. 1997. HMG-CoA reductase inhibitors suppress macrophage growth induced by oxidized low density lipoprotein. *Atherosclerosis* 133 (1): 51-59.
- Senaratne M.P., Thomson A.B., Kappagoda C.T. 1991. Lovastatin prevents the impairment of endothelium dependent relaxation and inhibits accumulation of cholesterol in the aorta in experimental atherosclerosis in rabbits. *Cardiovasc. Res.* 25(7): 568-578.
- Shiomi M., Ito T., Tsukada T., Yata T., Watanabe Y., Tsujita Y., Fukami M., Fukushima J., Hosokawa T., Tamura A. 1995. Reduction of serum cholesterol levels alters lesional composition of atherosclerotic plaques. Effect of pravastatin sodium on atherosclerosis in mature WHHL rabbits. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 15(11): 1938-1944.
- Shiomi M., Ito T. 1999. Effect of cerivastatin sodium, a new inhibitor of HMG-CoA reductase, on plasma lipid levels, progression of atherosclerosis, and the lesional composition in the plaques of WHHL rabbits. *Br. J. Pharmacol.* 126(4): 961-968.
- Shiomi M., Ito T., Tsukada T., Shiraishi M., Yata T. 1998. Effect of fluvastatin sodium on the smooth muscle cells in atherosclerotic plaques. In vivo study using low-density lipoprotein receptor deficient Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL) rabbits. *Arz. zeimittelforschung* 48(6): 680-685.
- Sukhova G.K., Williams J.K., Libby P. 2002. Statins reduce inflammation in atheroma of nonhuman primates independent of effects on serum cholesterol. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 22(9): 1452-1458.
- Williams J.K., Sukhova G.K., Herrington D.M., Libby P. 1998. Pravastatin has cholesterol-lowering independent effects on the artery wall of atherosclerotic monkeys. *J. Am. Coll. Cardiol.* 31(3):684-691.
- Xu C.B., Stenman E., Edvinsson L. 2002. Reduction of bFGF-induced smooth muscle cells proliferation and endothelin receptor mRNA expression by mevastatin and atorvastatin. *Biochem. Pharmacol.* 1: 64-72.
- Zhu B.Q., Sievers R.E., Sun Y.P., Isenberg W.M., Parmley W.W. 1992. Effect of lovastatin on suppression and regression of atherosclerosis in lipid-fed rabbits. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 19(2): 246-255.

