

Pleiotropic effects of simvastatin in patients with peripheral arterial occlusive disease

Plejotropowe działanie simwastatyny u pacjentów z miażdżycą naczyń obwodowych

Krzysztof Bieroń, Lilia Grodzińska, Dorota Starzyk, Aleksandra Goszcz, Magdalena Łomnicka, Ryszard Korbut

Department of Clinical Pharmacology, Chair of Pharmacology, Jagiellonian University School of Medicine Poland (Zakład Farmakologii Klinicznej Katedry Farmakologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie)

Abstract

Background. Simvastatin has a consolidated position in the primary and secondary prevention of cardiovascular disease in high risk patients. Simvastatin, independently of its hypolipaeamic action, changes endothelial function, stabilises atheromatous plaques and exerts antithrombotic and anti-inflammatory action.

The purpose of this paper was to verify the pleiotropic action of simvastatin in PAOD patients with normo- and hypercholesterolaemia.

Material and methods. Twenty patients with peripheral arterial occlusive disease (PAOD): 10 normocholesterolaemic (NCH) and 10 hypercholesterolaemic (HCH), 41–75 years, old were included in the study. The patients were treated with 40 mg of simvastatin daily for 3 months. At the beginning of the therapy, after one month and three months of treatment lipid levels and clinical investigations were performed.

Laboratory estimations were determined before starting therapy and 3 hours after ingestion of simvastatin tablets. The same procedure was repeated after one month and three months of therapy, always 12 hours after the last dose and 3 hours after intake of the tablet.

Results. Simvastatin caused significant reduction of TC, LDL and TG levels in both study groups. No changes in HDL levels were observed. An increase of ABI and FMD in the NCH group were observed. A significant increase of FMD, of pain-free and total walking distances were seen in HCH patients; no changes in ABI were observed. In both study groups significant fibrinolytic and antiplatelet action were observed, more distinct in the HCH group. No changes in the levels of t-PA antigen, RBC deformability and aggregability were seen in both study groups.

Conclusions. Simvastatin therapy caused clinical improvement in PAOD patients independently of its lipid lowering properties. These beneficial simvastatin effects may be related to the pleiotropic action and restoration of endothelial function.

Key words: simvastatin, peripheral arterial occlusive disease, hypolipaeamic and pleiotropic action

Streszczenie

Wstęp. Simwastatyna ma ugruntowaną pozycję w pierwotnej i wtórnej prewencji zaburzeń sercowo-naczyniowych u pacjentów z grupy wysokiego ryzyka. Oprócz działania hipolipemizującego może ona zmieniać funkcję śródbłonna, stabilizować blaszki miażdżycowe, działać przeciwzakrzepowo i przeciwzapalnie.

Address for correspondence (Adres do korespondencji):

Dr med. Krzysztof Bieroń, Department of Clinical Pharmacology, Chair of Pharmacology, Jagiellonian University School of Medicine
ul. Grzegorzewska 16, 31–531 Cracow, Poland
tel: +48 (12) 421 11 68, fax: +48 (12) 421 72 17

Celem pracy było sprawdzenie działania plejotropowego simwastatyny u pacjentów z miażdżycą naczyń obwodowych (PAOD) oraz współistniejącą normo- i hipercholesterolemią.

Materiał i metody. Badaniem objęto 20 mężczyzn z PAOD: 10 z normocholesterolemią (NCH) i 10 z hipercholesterolemią (HCH) w wieku 41–75 lat (średnia $58 \pm 9,4$ roku). Pacjenci otrzymywali doustnie raz dziennie 40 mg simwastatyny (Zocor) przez 3 miesiące. Przed rozpoczęciem terapii, po miesiącu i 3 miesiącach leczenia oznaczano stężenie lipidów oraz przeprowadzano badania kliniczne oceniające skuteczność terapii.

Badania laboratoryjne przeprowadzono przed rozpoczęciem terapii i po 3 godzinach od przyjęcia simwastatyny. Te same oznaczenia wykonywano po miesiącu i 3 miesiącach leczenia, zwykle 12 godzin po przyjęciu wieczornej dawki i po 3 godzinach od przyjęcia simwastatyny.

Wyniki. Simwastatyna powodowała redukcję stężeń całkowitego cholesterolu (TC), lipoprotein o małej gęstości (LDL), triglicerydów (TG) w obu badanych grupach. Nie stwierdzono znamienych różnic w stężeniu cholesterolu frakcji HDL.

W grupie osób z NCH nastąpił wzrost wartości wskaźnika kostkowo-ramieniowego (ABI) i rozszerzalności tętnicy ramieniowej (FMD). Natomiast w grupie badanych z HCH stwierdzono znamienne wydłużenie obu dystansów i wzrost FMD przy braku zmian w ABI. W obu badanych grupach wykazano statystycznie znamienne działanie fibrynolityczne i przeciwplatekcyjne silniej wyrażone w grupie HCH, natomiast nie stwierdzono zmian w stężeniu antygeny tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA), odkształcalności i agregacji krwinek czerwonych.

Wnioski. Simwastatyna powodowała kliniczną poprawę u pacjentów z PAOD, niezależnie od jej działania hipolipemizującego. Te korzystne efekty mogą być wynikiem działania plejotropowego, poprawy funkcji śródbłonna naczyniowego i stabilizacji blaszek miażdżycowych.

Słowa kluczowe: simwastatyna, miażdżycza tętnic kończyn dolnych, działanie hipolipemizujące, działanie plejotropowe

Introduction

Inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase have a consolidated position in the primary [1] and secondary prevention of cardiovascular disease in high risk patients with hyperlipidaemia and normolipidaemia [2].

Besides well documented hypolipaeamic action, inhibitors of HMG-CoA reductase may have a direct influence on human cells and inhibit development of atherosclerosis and its complications [3]. These drugs may change endothelial function [4], stabilize atheromatous plaques [5], intensify fibrinolytic activity [6] and demonstrate antithrombotic [7] and anti-inflammatory action [8].

For many years it was believed, according to Virchow's theory, that the atherogenic process is connected with lipid deposition in arterial walls. At present the opinion that the development of atherosclerosis is a more complicated process connected with chronic inflammatory changes in vessel walls and impairment of endothelial function predominates [9]. These changes preceded the development of atheromatous plaques [10].

The pleiotropic action of statins was first demonstrated in patients with coronary arterial disease and diabetes [11]. These pleiotropic effects of statins have not been extensively investigated and analysed in PAOD patients [12, 13]. Mondillo et al. [14] observed the ben-

Wstęp

Inhibitory reduktazy 3-hydroksy-3-metyloglutarylokoenzymu A (HMG-CoA) od wielu lat mają ugruntowaną pozycję w pierwotnej [1] i wtórnej prewencji zaburzeń sercowo-naczyniowych u pacjentów z grupy wysokiego ryzyka z hiperlipidemią czy też normolipidemią [2].

Oprócz dobrze udokumentowanego działania hipolipemizującego wykazano, że inhibitory reduktazy HMG-CoA mogą bezpośrednio wpływać na komórki ustroju ludzkiego i w ten sposób hamować rozwój miażdżycy i jej powikłań [3]. Leki te mogą zmieniać funkcję śródbłonna [4], wpływać na stabilizację blaszki miażdżycowej [5], nasilać działanie fibrynolityczne [6], działać przeciwzakrzepowo [7] i przeciwzapalnie [8].

Opierając się na teorii Virchowa, przez wiele lat uważano, że proces aterogeny wiąże się z odkładaniem lipidów w ścianie naczyń tętniczych. Obecnie dominuje pogląd, że rozwój miażdżycy jest procesem bardziej złożonym, związanym z przewlekłymi zmianami zapalnymi w ścianie naczyń i upośledzoną funkcją śródbłonna [9]. Zmiany te wyprzedzają rozwój płytek miażdżycowych [10].

Działanie plejotropowe statyn wykazano przede wszystkim u pacjentów z chorobą wieńcową i cukrzycą [11]. Efekty plejotropowe statyn nie były tak intensywnie badane i analizowane u osób z miażdżycą naczyń

eficial therapeutic action of simvastatin in hyperlipidaemic PAOD patients. However, the mechanisms by which this improvement is achieved remain unclear.

Therefore in our study we investigated the effects of 3-months of simvastatin treatment in normo- and hypercholesterolaemic PAOD patients on numerous mechanisms, which did not seem to be directly related to the reduction of lipid levels, but rather to the regulation of endothelial function.

Material and methods

Twenty patients with symptomatic peripheral arterial occlusive disease (PAOD) according to Fontaine stages IIa and IIb were included in the study. Their age ranged from 41–75 years (average 58 ± 9.4).

Ten out of the 20 patients were normocholesterolaemic (NCH — total cholesterol $< 5,5$ mmol/l, and 10 patients hypercholesterolaemic (HCH — total cholesterol $> 5,5$ mmol/l). The clinical characteristics of the study groups are shown in Table I.

Patients with previous surgery and angioplasty for peripheral arterial occlusive disease, with disease of the liver, kidney or bile tract, thyroid disease, heart failure, neurological disease, uncontrolled hypertension or previously treated with cholesterol lowering drugs (statins, fibrates) were excluded.

The trial was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and informed consent was obtained from each patient. The patients were treated with 40 mg of simvastatin (Zocor) daily in the evening for 3 months. All patients underwent standard medical examinations (ECG, chest X-rays and laboratory tests: routine haematology, blood chemistry, urine analysis). Total cholesterol (TC), low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL) triglycerides (TG), aminotransferases (Alat, Aspat) and creatinine kinase (CK) levels were determined using standard procedures at the beginning of the study and after 1 and 3 months of treatment.

Clinical examinations

- All patients underwent clinical examinations:
- the exercise test was performed with a horizontal treadmill at a speed of 4 km/hr and 11° inclination. The pain-free (defined as the distance at which initial pain occurred in one of the lower limbs) and total walking distance (defined as the distance at which the pain forced the patient to stop walking) were both registered in metres. The exercise test was repeated after 30 min additional rest and the mean value calculated;
 - ankle-brachial index (ABI) was measured in both limbs by Doppler ultrasound probe;

Table I. Characteristics of the two study groups

Tabela I. Charakterystyka obu badanych grup

Characteristics Charakterystyka	NCH (n = 10)	HCH (n = 10)
Male sex Mężczyźni	10	7
Female sex Kobiety	0	3
Age Wiek	61.1 ± 11.8	56.2 ± 7.1
Diabetes Cukrzyca	2	1
Hypertension (ACE inhibitors) Nadciśnienie tętnicze (inhibitory ACE)	4 (4)	3 (3)
Rest ABI Spoczynkowy ABI		
Limb more affected Kończyna bardziej niedokrwniona	0.60 ± 0.17	0.63 ± 0.13
Limb less affected Kończyna mniej niedokrwniona	0.79 ± 0.20	0.76 ± 0.14

ACE — angiotensin-converting enzyme (enzym konwertujący angiotensynę); ABI — ankle brachial index (wskaznik kostkowo-ramienny); NCH — normocholesterolaemic (grupa z normocholesterolemią); HCH — hypercholesterolaemic (grupa z hipercholesterolemią)

obwodowych [12, 13]. Mondillo i wsp. [14] obserwowali korzystne terapeutyczne działanie simwastatyny u pacjentów z hiperlipidemią i miażdżycą naczyń kończyn dolnych, jednak odpowiedzialnych za to mechanizmów nie wyjaśniono.

Autorzy niniejszej pracy badali wpływ 3-miesięcznej terapii simwastatyną na liczne procesy niezwiązane z redukcją lipidów, lecz prawdopodobnie z regulacją funkcji śródbłonna u osób z miażdżycą naczyń kończyn dolnych z normo- i hiperlipidemią.

Material i metody

Badaniem objęto grupę 20 chorych na miażdżycę naczyń obwodowych (PAOD) w stadium IIa i IIb według klasyfikacji Fontaine'a w wieku 41–75 lat (średnia $58 \pm 9,4$ roku).

U 10 pacjentów stwierdzono normocholesterolomię (NCH — cholesterol całkowity $< 5,5$ mmol/l), natomiast u następnych 10 stężenie cholesterolu było zwiększone (HCH $> 5,5$ mmol/l). Charakterystykę osób objętych badaniem przedstawiono w tabeli I. Wykluczono pacjentów poddanych wcześniej zabiegom chirurgicznym, po angioplastyce z powodu miażdżycy naczyń kończyn dolnych (PAOD), z uszkodzeniem wątroby, chorobami dróg żółciowych, tarczycy, z wadami serca, ze schorzeniami neurologicznymi, z niekontrolowanym nadciśnieniem lub wcześniej leczonych lekami hipolipemizującymi (statyny, fibraty).

— endothelium dependent flow mediated dilation (FMD) was measured by ultrasound technique, performed according to the method described by Celemajer et al. [15].

All those tests were done at baseline, one month and three months after the beginning of the therapy.

Laboratory estimations

After overnight fasting, the blood samples were obtained from the antecubital vein before the intake of the first tablet of simvastatin and 3 hr after intake. The same procedure was repeated after 30 and 90 days of therapy, always 12 hours after the last dose and 3 hours after intake of the tablet:

- euglobulin clot lysis time (ECLT) was estimated according to von Kaulla [16] and expressed in minutes;
- the level of tissue plasminogen activator antigen was measured in ng/ml using commercially available kits (Biopol, Sweden) as previously described by Korbut et al. [17];
- platelet aggregate ratio (PAR) as the measure of spontaneous platelet aggregation was calculated by means of the Wu & Hoak's method [18];
- platelet aggregability and threshold of pro-aggregatory concentration of ADP and collagen were determined according to Born's method [19] as previously described by us [20];
- red blood cell deformability was studied using a shear stress laser diffractometer (Rheodyn SSD Myorene Roentgen) according to the procedure described in our previous studies [21];
- red blood cell aggregability was measured using an erythrocyte aggregometer with incorporated photometer working in the infrared range.

Statistical analysis

All data were expressed as mean \pm standard deviation ($M \pm S.D.$) of n experiments. For statistical calculations the analysis of single classification paired values and Scheffe's test were used. Statistical differences were considered significant at $p < 0.05$.

Results

Two study groups had similar demographic characteristics of cardiovascular risk factors and manifestations of peripheral arterial occlusive disease (Table I).

As expected, simvastatin treatment caused a significant reduction in the total cholesterol (TC) low density lipoprotein cholesterol (LDL) and triglyceride (TG) levels in both groups (Table II).

In the NCH patients TC was reduced by 26%, LDL by 42% and TG by 28% after three months of treat-

Badania przeprowadzono, opierając się na Deklaracji Helsińskiej. Każdy pacjent został poinformowany o badaniu oraz o objawach niepożądanych i wyraził pisemną zgodę na jego przeprowadzenie.

Chorzy otrzymywali 40 mg simwastatyny (Zocor) codziennie w godzinach wieczornych przez 3 miesiące. Poddawano ich rutynowym badaniom przedmiotowym i podmiotowym. Wykonywano: EKG, RTG klatki piersiowej i rutynowe badania laboratoryjne (morfologia, badanie biochemiczne i enzymatyczne krwi, badanie ogólne moczu). Przed rozpoczęciem badania, po 1 i 3 miesiącach terapii oznaczano stężenia cholesterolu całkowitego (TC), lipoprotein o małej gęstości (LDL), dużej gęstości (HDL), triglicerydów (TG), aminotransferaz (Alat, Aspat) i kinazy kreatynowej (CK).

Oznaczenia kliniczne

Wykonano oznaczenie kliniczne, takie jak:

- test marszowy na bieżni o szybkości 4 km/h i nachyleniu 11° — oznaczano w metrach dystans bezbólowy (do chwili pojawienia się bólu) i maksymalny (do chwili, kiedy ból zmuszał chorego do zatrzymania się). Test marszowy powtarzano po 30 min i obliczano średnią;
- wskaźnik kostkowo-ramienny (ABI) — mierzono w obu kończynach za pomocą ultrasonograficznego detektora przepływu krwi;
- rozszerzalność tętnicy ramieniowej (FMD) zależną od śródbłonna, którą mierzono, używając ultrasonografu według metody opisanej przez Celemajera [15]. Wszystkie te oznaczenia przeprowadzono przed rozpoczęciem terapii oraz po upływie miesiąca i 3 miesięcy leczenia simwastatyną.

Oznaczenia laboratoryjne

Próbki krwi do badania pobierano na czczo z żyły łokciowej przed rozpoczęciem terapii i po 3 godzinach od przyjęcia 40 mg simwastatyny. Te same oznaczenia powtarzano po 30 i 90 dniach terapii, zwykle 12 godzin po zażyciu wieczornej dawki i 3 godziny po podaniu simwastatyny. Oceniano:

- czas lizy skrzepu euglobulinowego (ECLT) oznaczony w minutach według metody von Kaulla [16];
- stężenie antygeny tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA) w ng/ml przy użyciu zestawu firmy Biopol według opisu Korbuta i wsp. [17];
- wskaźnik agregatów płytkowych (PAR) będący miarą samoistnej agregacji płytek krwi — według metody Wu i Hoaka [18];
- wrażliwość płytek krwi na czynniki proagregacyjne (ADP i kolagen) — według metody Borna [19] i opisanej we wcześniejszych pracach [20];

Table II. Lipid profile in the two study groups: NCH (n = 10) and HCH (n = 10); ***p < 0.001 versus baseline; **p < 0.01 versus baseline; *p < 0.05 versus baseline

Tabela II. Profil lipidowy w obu badanych grupach NCH (n = 10) i HCH (n = 10); *** p < 0,001 w stosunku do wartości wyjściowych; ** p < 0,01 w stosunku do wartości wyjściowych; * p < 0,05 w stosunku do wartości wyjściowych

Value Wartość [mmol/l]	Baseline Wyjściowe		After 1 month Po 1 miesiącu		After 3 months Po 3 miesiącach	
	NCH (n = 10)	HCH (n = 10)	NCH (n = 10)	HCH (n = 10)	NCH (n = 10)	HCH (n = 10)
TC	5.12 ± 0.30	7.11 ± 1.29	3.63 ± 0.59***	4.77 ± 0.50***	3.79 ± 1.25**	4.77 ± 0.6***
LDL	3.27 ± 0.42	4.43 ± 1.76	1.79 ± 0.49***	2.63 ± 0.48**	1.90 ± 0.89***	2.65 ± 0.73**
HDL	1.22 ± 0.27	1.05 ± 0.17	1.19 ± 0.24	1.09 ± 0.16	1.25 ± 0.44	1.11 ± 0.17
TG	1.69 ± 0.70	2.74 ± 1.15	1.31 ± 0.78*	1.81 ± 0.45*	1.22 ± 0.44*	2.02 ± 0.5

TC — total cholesterol (cholesterol całkowity); LDL — low density lipoprotein (lipoproteiny o małej gęstości); TG — triglycerides (triglicerydy); HDL — high density lipoprotein (lipoproteiny o dużej gęstości); NCH — normocholesterolaemic (grupa z normocholesterolemią); HCH — hypercholesterolaemic (grupa z hipercholesterolemią)

ment. In the same time, in HCH patients, considerable reduction of lipid levels were observed. TC decreased by 33%, LDL-cholesterol by 40% and TG by 25%. No significant changes in high density lipoprotein cholesterol (HDL) were observed in either study group (Table II).

After 3 months of treatment the pain-free walking distance increased significantly, and total walking distance increased non-significantly in the NCH group (Table III). On the contrary, in the HCH patients the pain-free walking distance increased from 160.5 ± 133 m to 250 ± 157.2 m after 1 month of therapy and to 263.5 ± 195 m after 3 months; the total walking distance increased from 337.0 ± 440 m to 488.5 ± 597.8 m after 1 month and to 568.0 ± 705 m after 3 months of simvastatin treatment (Table III).

In the NCH group a significant rise in ankle brachial index (ABI) was observed in the least affected limb from 0.79 ± 0.20 to 0.89 ± 0.16 after 1 month and from 0.79 ± 0.20 to 0.92 ± 0.20 after 3 months of therapy. After one month of treatment this increased by 13% and after three months by 16% (Table III).

No statistically significant changes in rest ABI were observed in the HCH group (Table III).

In the NCH group, flow mediated dilation (FMD) increased significantly from 3.7 ± 3.9 to 9.3 ± 5.5 after 3 months of therapy.

In the HCH group after 1 and 3 months of treatment we observed a non-significant increase of FMD (1.6 ± 1.8 vs. 4.1 ± 2.1 after 1 month; and 1.6 ± 1.8 vs. 4.50 ± 4.23 after 3 months) (Table III).

After the first initial 3 hours from the intake of the simvastatin tablet ECLT shortened significantly in both groups of patients by about 30% on each estimation day (Figure 1).

— odkształcalność krwinek czerwonych, którą badano przy użyciu laserowego dyfraktometru (*Rheodyn SSD Myoremme Roetgen*) według metody opisanej przez Starzyk i wsp. [21];

— zdolność agregacyjną krwinek czerwonych mierzona z zastosowaniem agregometru z wbudowanym fotometrem pracującym w zakresie promieni podczerwieni.

Analiza statystyczna

Wszystkie wyniki podano jako średnią ± standardowe odchylenie (M ± SD). Do obliczenia znamionności zastosowano analizę klasyfikacji pojedynczej dla prób powiązanych i test Scheffego.

Za znamienne statystycznie różnice przyjęto wartości p < 0,05.

Wyniki

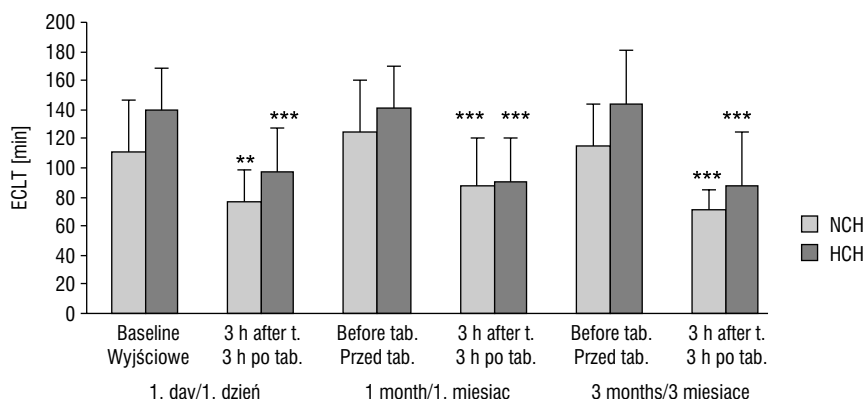
Obie badane grupy charakteryzowały się podobnymi danymi demograficznymi, czynnikami ryzyka oraz objawami miażdżycy naczyń kończyn dolnych (tab. I), Simvastatyna zgodnie z oczekiwaniami powodowała redukcję cholesterolu całkowitego (TC), cholesterolu frakcji LDL i triglicerydów (TG) w obu badanych grupach (tab. II). Po 3 miesiącach w grupie pacjentów z NCH stężenie cholesterolu całkowitego zmniejszyło się o 26%, cholesterolu frakcji LDL o 42%, a triglicerydów o około 28%.

W tym samym czasie w grupie osób z HCH obserwowano znaczną redukcję stężenia lipidów; stężenie cholesterolu całkowitego zmniejszyło się o 33%, cholesterolu frakcji LDL o około 40%, a triglicerydów o około 25%. Nie stwierdzono istotnych zmian w stężeniu cholesterolu frakcji HDL w obu badanych grupach (tab. II).

Table III. Treadmill test results, rest ABI and FMD in the two study groups; **p < 0.01 versus baseline; *p < 0.05 versus baseline**Tabela III.** Bezbólowy i maksymalny dystans marszowy, spoczynkowy ABI i FMD w obu badanych grupach: NCH (n = 10) i HCH (n = 10); **p < 0,01 w stosunku do wartości wyjściowych; *p < 0,05 w stosunku do wartości wyjściowych

Measurement Rodzaj badania	Baseline Wyjściowe		After 1 month Po 1 miesiącu		After 3 months Po 3 miesiącach	
	NCH	HCH	NCH	HCH	NCH	HCH
Pain-free walking distance [m] Dystans bezbólowy [m]	240.5 ± 173.6	160.5 ± 133.6	264.5 ± 180.7	250.0 ± 157.2**	317.0 ± 232.8*	263.5 ± 195.0**
Total walking distance [m] Maksymalny dystans [m]	399.5 ± 435.4	337.0 ± 440.5	424.0 ± 384.9	488.5 ± 597.8*	492.5 ± 430.0	568.0 ± 705.7*
Rest ABI Spoczynkowy ABI						
Limb more affected Kończyna bardziej niedokrwiona	0.60 ± 0.17	0.63 ± 0.13	0.68 ± 0.22	0.66 ± 0.20	0.65 ± 0.18	0.62 ± 0.14
Limb less affected Kończyna mniej niedokrwiona	0.79 ± 0.20	0.76 ± 0.14	0.89 ± 0.16*	0.78 ± 0.16	0.92 ± 0.20*	0.80 ± 0.21
FMD	3.68 ± 3.94	1.61 ± 1.80	6.10 ± 4.08	4.10 ± 2.07	9.30 ± 5.49*	4.50 ± 4.23

ABI — ankle brachial index (wskaźnik kostkowo-ramienny); FMD — flow-mediated dilation (zależna od śródbłonna rozszerzalność tętnicy ramieniowej); NCH — normocholesterolaemic (grupa z normocholesterolemią); HCH — hypercholesterolaemic (grupa z hipercholesterolemią)

**Figure 1.** Euglobulin clot lysis time (ECLT) after simvastatin treatment in NCH (n = 10) and HCH (n = 10) PAOD patients; NCH — normocholesterolaemic; HCH — hypercholesterolaemic; **p < 0.01 ***p < 0.001**Rycina 1.** Czas lizy skrzepu euglobulinowego (ECLT) po leczeniu simwastatyną u pacjentów NCH (n = 10) i HCH (n = 10); NCH — grupa z normocholesterolemią; HCH — grupa z hipercholesterolemią; **p < 0,01, ***p < 0,001

In both study groups no changes were seen in the levels of t-PA antigen (from 6.4 ± 3.7 ng/ml to 7.4 ± 0.45 ng/ml versus baseline value 7.4 ± 0.6 ng/ml).

Three month therapy resulted in an increase of platelet aggregate ratio (PAR) in NCH patients of about 13%, and in HCH patients about 37% (Figure 2). A slight increase of PAR was observed 12 hr after ingestion of the tablet during the whole time of treatment in HCH pa-

Po 3 miesiącach terapii zarówno dystans bezbólowy, jak i maksymalny wydłużył się w grupie z NCH. Zmiany te nie są znamienne statystycznie w przypadku dystansu maksymalnego (tab. III).

Natomiast w grupie osób z HCH po 1. miesiącu i 3 miesiącach terapii dystans bezbólowy zwiększył się ze $160,5 \pm 133$ m do $250 \pm 157,2$ m po 1. miesiącu i do $263,5 \pm 195$ m po 3 miesiącach leczenia, a maksymalny

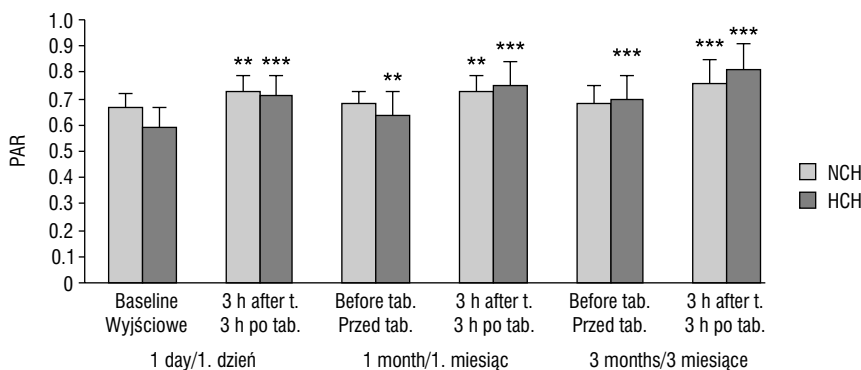


Figure 2. Platelet aggregates ratio (PAR) after simvastatin treatment in NCH (n = 10) and HCH (n = 10) PAOD patients; NCH — normocholesterolaemic; HCH — hypercholesterolaemic; **p < 0.01, ***p < 0.001

Rycina 2. Wskaźnik agregatów płytkowych (PAR) po leczeniu simwastatyną u pacjentów NCH (n = 10) i HCH (n = 10); NCH — grupa z normocholesterdemią; HCH — grupa z hipercholesterolemią; **p < 0,01, ***p < 0,001

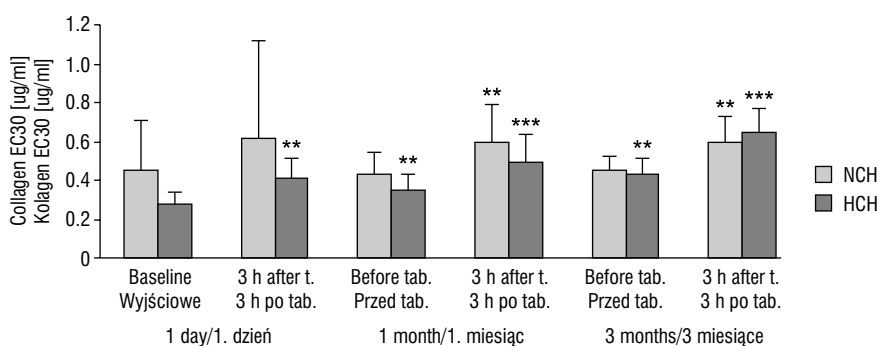


Figure 3. Collagen-induced platelet aggregation after simvastatin treatment in NCH (n = 10) and HCH (n = 10) PAOD patients; NCH — normocholesterolaemic; HCH — hypercholesterolaemic; **p < 0.01, ***p < 0.001

Rycina 3. Agregacja płytek krwi indukowana kolagenem po leczeniu simwastatyną u pacjentów NCH (n = 10) i HCH (n = 10); NCH — grupa z normocholesterdemią; HCH — grupa z hipercholesterolemią; **p < 0,01, ***p < 0,001

tients (after the first month about 7% and after 3 months about 17%) (Figure 2).

In the NCH group the platelets were less sensitive to collagen (about 30%) 3 hr after intake of the tablet during the whole therapy, but the susceptibility of platelets 12 hr after intake of simvastatin returned to baseline values.

The platelets of HCH patients in the course of the treatment became less sensitive to collagen. Susceptibility to collagen diminished by about 46% three hours after intake of the first tablet, by 75% after 1 month and by 132% after 3 months. In this group of patients the threshold of proaggregatory collagen concentration (expressed as EC₃₀) was increased from 0.28 ± 0.06 to 0.35 ± 0.08 mg/ml after 1 month and to 0.43 ± 0.08 after 3 months of therapy (Figure 3).

The platelets of the NCH group also became less sensitive to ADP 3 hr after ingestion of the first tablet

z 337,0 ± 440,0 m do 488,5 ± 597,8 m po 1. miesiącu i do 568,0 ± 705,0 m po 3 miesiącach leczenia simwastatyną (tab. III).

W grupie badanych z NCH obserwowano znamienne wzrost ABI w kończynie mniej niedokrwionej 0,79 ± 0,20 vs. 0,89 ± 0,16 po 1. miesiącu i 0,79 ± 0,20 vs. 0,92 ± 0,20 po 3 miesiącach terapii. Po 1. miesiącu ABI zwiększył się o 13%, a po 3 miesiącach o 16% (tab. III). Nie stwierdzono istotnych zmian w spoczynkowym ABI w grupie z HCH.

Rozszerzalność tętnicy ramieniowej w grupie osób z NCH wzrosła z 3,7 ± 3,9 do 9,3 ± 5,5 po 3 miesiącach terapii; w grupie z HCH obserwowano nieznacznie statystycznie wzrost z 1,6 ± 1,8 do 4,1 ± 2,1 po miesięcznej terapii i do 4,50 ± 4,23 po 3 miesiącach leczenia (tab. III).

W obu badanych grupach po 3 godzinach od przyjęcia tabletki simwastatyny ECLT skracał się w sposób

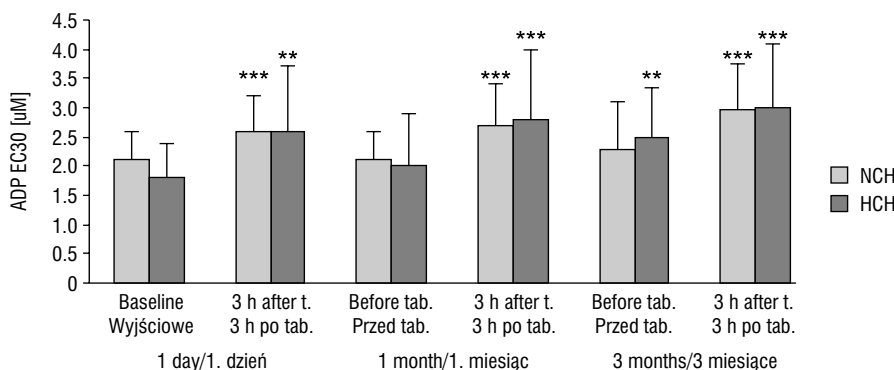


Figure 4. ADP-induced platelet aggregation after simvastatin treatment in NCH (n = 10) and HCH (n = 10) PAOD patients; NCH — normocholesterolaemic; HCH — hypercholesterolaemic; **p < 0.01, ***p < 0.001

Rycina 4. Agregacja płytek krwi indukowana ADP po leczeniu simwastatyną u pacjentów NCH (n = 10) i HCH (n = 10); NCH — grupa z normocholesterdemią; HCH — grupa z hipercholesterolemia; **p < 0,01, ***p < 0,001

by about 23%, after 1 month by about 20.5% and after 3 months of treatment by about 28.4%.

In the HCH group the susceptibility of platelets decreased on the first day by about 42%, after a month by 40%, and after 3 months of therapy by about 20% (Figure 4). In this group the threshold proaggregatory concentration of ADP (expressed as EC₃₀) significantly increased from 1.82 ± 0.64 mM to 2.54 ± 0.85 mM after 3 months of simvastatin treatment.

Discussion

Endothelial dysfunction is an early event in atherosclerotic disease that normally precedes the onset of clinical symptoms and complications. Therefore it has been postulated that improvement of the endothelial function in the early course of atherosclerosis could prevent its development. Numerous studies in animal models and in cell cultures [4, 6, 22] have demonstrated that a correction of endothelial dysfunction may be achieved by statin therapy. However, the evidence is limited regarding the effects of statin treatment in many specific groups of high-risk patients. In particular, very little is known about these effects in patients with peripheral vascular disease, diabetic micro- and macro-angiopathies irrespective of the blood lipid concentrations [23].

In the present study we have shown that simvastatin causes an improvement in tolerance of physical effort which happens independently of lipid levels in both patient groups. A moderate increase in rest ABI was observed in less affected limbs of NCH patients. No changes in ABI in both limbs were found in the HCH group. In the literature a lot of discrepancies in ABI results in patients treated with drugs affecting vascular wall and endothelium have been described. Mondillo et al.

znamienny statystycznie w dniach, w których prowadzono oznaczenia (ryc. 1).

W obu grupach nie stwierdzono zmian w stężeniu antygenu t-PA (od $6,4 \pm 3,7$ ng/ml do $7,4 \pm 0,45$ ng/ml) w stosunku do kontrolnych wartości ($7,4 \pm 0,6$ ng/ml).

Trzymiesięczna terapia simwastatyną wywoływała wzrost PAR o około 13% u pacjentów z NCH, a u osób z HCH o około 37%. Nieznaczne zwiększenie PAR obserwowano 12 godzin po przyjęciu simwastatyny podczas całej terapii u badanych z HCH (ok. 7% po miesięcznej terapii i ok. 13% po 3-miesięcznej terapii) (ryc. 2).

Płytki krwi pacjentów z NCH były mniej wrażliwe na kolagen (ok. 30%) 3 godziny po zażyciu tabletki simwastatyny podczas całego okresu leczenia. Natomiast wrażliwość płytek krwi po 12 godzinach od przyjęcia simwastatyny wracała do wartości wyjściowych.

W grupie z HCH obserwowano zmniejszenie wrażliwości płytek krwi na kolagen. Wrażliwość płytek 3 godziny po zażyciu pierwszej tabletki simwastatyny zmniejszała się o 46%, po miesiącu o 75% i po 3 miesiącach o 132%. W tej badanej grupie zanotowano wzrost progów agregacyjnych dla kolagenu (wyrażonych jako EC₃₀) z $0,28 \pm 0,06$ do $0,35 \pm 0,08$ po 1. miesiącu terapii i do $0,43 \pm 0,08$ po 3 miesiącach leczenia (ryc. 3).

Płytki krwi u osób z NCH stały się mniej wrażliwe na adenozyndifosforan (ADP) — 3 godziny po przyjęciu pierwszej tabletki o około 23%, po 1. miesiącu o 20,5%, a po 3 miesiącach terapii o 28,4%.

W grupie pacjentów z HCH wrażliwość płytek krwi zmniejszała się o około 42% w pierwszym dniu, o 40% po miesiącu i o 20% po 3 miesiącach leczenia (ryc. 4). W tej grupie progowe stężenia proagregacyjne dla ADP (wyrażone jako EC₃₀) znacznie wzrastały od $1,82 \pm 0,64$ do $2,54 \pm 0,85$ po 3 miesiącach terapii simwastatyną.

[14] in a double blind placebo controlled study with simvastatin in PAOD patients observed a rise in rest and exercise ABI after 3 and 6 months of treatment.

On the other hand, Möhler et al. [24] could not find any improvement of ABI in PAOD patients after 12 months of treatment with low and high doses of atorvastatin. In the latter study only the pain-free walking distance was increased. Although possible changes in the ABI depend upon duration of the treatment, it is important to note that in our study simvastatin treatment was able to improve both the walking distance and the function of vascular endothelium as measured by FMD method.

According to The Multicentre Anti-Atheroma Study (MAAS) [25] and Koon et al. [26] the clinical improvement after statin treatment does not seem to be related to the regression of atherosclerotic plaque since a direct reduction in plaque dimension can be observed only after two to four years of simvastatin therapy. The positive outcomes observed in our study may in part, be related to plaque stabilization as it has been shown in previous clinical trials [27, 28].

The improvement of endothelial function may play a pivotal role in the clinical benefits of simvastatin therapy. Increased FMD of the brachial artery was observed in both studied groups during the treatment. A rise in FMD in patients treated with simvastatin and pravastatin has previously been reported by Sebestjen et al. [29]. Interestingly, in this study the improvement of endothelial function did not correlate with changes of the lipid parameters measured. However, the number of patients was modest, and the observation period was about 3 months.

It is believed that FMD of the brachial artery is endothelium-dependent and predominantly mediated by the release of nitric oxide [30]. Simvastatin incubated with cultured endothelial cells [31], aorta bovine rings [32] and in isolated rat hearts [22] induced an up-regulation of nitric oxide synthase.

In a randomized, double-blind placebo controlled study with simvastatin in hypercholesterolaemic patients an increased dilation of the brachial artery was observed. After 4 weeks of simvastatin therapy the vasodilated answer for Ach was considerably increased. But simvastatin intensified vasospastic (angiospastic) answer to L-NMMA infusion; however, the answer to the vasodilating action of sodium nitroprusside did not change [33]. This is evidence that basal release is essential. Therefore, we believe that simvastatin-induced improvement of FMD may simply result from up-regulation of nitric oxide synthase, which enhances endothelial production of nitric oxide. We suggest that the same mechanism is responsible for an improvement of the endothelial function also

Dyskusja

Zaburzenie funkcji śródbłonna następuje zwykle we wczesnych okresach rozwoju miażdżycy, kiedy nie obserwuje się jeszcze objawów ani komplikacji tej choroby. Wysłunięto hipotezę, że poprawa funkcji śródbłonna może zahamować rozwój miażdżycy. W wielu badaniach przeprowadzonych na modelach zwierzęcych i hodowlach komórkowych [4, 6, 22] wykazano, że poprawę funkcji śródbłonna można uzyskać, stosując statyny. Badania dotyczące statyn zwykle przeprowadzono u osób z grupy dużego ryzyka. Niewiele badań dotyczyło pacjentów ze zmianami miażdżycowymi w naczyniach obwodowych, mikro- i makroangiopatią cukrzycową, niezależnie od stężenia cholesterolu [23].

W niniejszej pracy simwastatyna — jedna z najczęściej stosowanych statyn — zwiększała tolerancję na wysiłek fizyczny w obu grupach pacjentów niezależnie od stężenia lipidów. Nieznaczny wzrost spoczynkowego ABI obserwowano w kończynie mniej niedokrwionej u osób z NCH. Nie stwierdzono zmian w spoczynkowym ABI w grupie z HCH. W piśmiennictwie jest wiele rozbieżności dotyczących zmian ABI u osób poddanych terapii lekami wpływającymi na śródbłonek naczyniowy. Mondillo i wsp. [14] w podwójnie ślepej próbie, w której zastosowano simwastatynę, obserwowali wzrost spoczynkowego i wysiłkowego ABI po 3 i 6 miesiącach leczenia. Natomiast Möhler i wsp. [24] nie stwierdzili zmian w ABI u pacjentów z PAOD po 12 miesiącach leczenia małymi i dużymi dawkami atorwastatyny; w tej próbie tylko dystans bezbólkowy uległ wydłużeniu. Możliwe, że zmiany ABI zależą od czasu trwania terapii, jednak warto podkreślić, że w badaniach przeprowadzonych przez autorów niniejszej pracy leczenie simwastatyną wydłużało zarówno dystans bezbólkowy, jak i funkcję śródbłonna mierzoną metodą FMD.

Zgodnie z wynikami badania MAAS [25] oraz obserwacjami Koon i wsp. [26] kliniczna poprawa po leczeniu statynami nie wiąże się z regresją blaszek miażdżycowych, gdyż zmniejszenie ich rozmiarów stwierdza się po 2–4 latach terapii simwastatyną.

Te pozytywne wyniki obserwowane w badaniach przeprowadzonych przez autorów niniejszej pracy mogą się częściowo wiązać ze stabilizacją płytki miażdżycowej, jak to wykazano w innych badaniach klinicznych [27, 28]. Poprawa funkcji wydzielniczej śródbłonna odgrywa z pewnością korzystną rolę.

Wzrost FMD tętnicy ramieniowej obserwowano w obu badanych grupach, przy znamienności statystycznej tylko w grupie z NCH. Zwiększenie FMD tętnicy ramieniowej u pacjentów leczonych simwastatyną i prawastatyną stwierdzili Sebestjen i wsp. [29]. W tych badaniach nie wykazano korelacji między poprawą funkcji śród-

shown in our study. Simvastatin induces the improvement of endothelial function by increased expression of endothelial nitric oxide synthase (eNOS), which enhances endothelial secretion of nitric oxide.

Another potential mechanism could include a simvastatin-induced decrease in endothelin I generation [34]. Endothelin I (ET-1) is a powerful vasoconstrictor and by lowering its levels, simvastatin may reduce vascular resistance and improve blood flow. Endothelin I is also a powerful activator of oxidative stress and therefore could limit the bioavailability of nitric oxide.

In our patients simvastatin therapy also enhanced plasma fibrinolytic activity. The activation of fibrinolysis was observed 3 hr after ingestion of the drug and disappeared within 12 hr. A study by Undas et al. [7] demonstrated that the antithrombotic action of simvastatin after 3 months therapy is related to impaired activation of thrombin, factor V, factor XIII and fibrinogen. The authors claimed that the influence of simvastatin on clotting cascade is totally independent of its lipid lowering action. It seems to us that the mechanism of simvastatin-induced activation of fibrinolysis may not be so clear. The short-term activation of the fibrinolytic system by simvastatin may be associated with the inhibition of the release of the plasminogen activator inhibitor (PAI-1) from platelets by endothelial nitric oxide. Previously we reported that nitric oxide donors inhibited PAI-1 release from platelets [17]. Moreover, we found that the nitric oxide donor — molsidomine lowered PAI-1 and elevated t-PA activities both in healthy subjects [35] and PAOD patients [36].

Interestingly, in the present study shortening of ECLT occurred in all patients irrespective of the lipid levels and the degree of impairment of endothelial or platelet function.

In parallel to the ability of improvement of plasma fibrinolytic properties, simvastatin also caused a suppression of spontaneous platelet aggregation (expressed as PAR) and decreased the susceptibility of platelets to collagen and ADP, especially in the hypercholesterolaemic group. Since simvastatin (or its active metabolite) incubated with human platelet rich plasma exerted no direct antiaggregatory properties [32] we suggest that the antiplatelet action of the drug is indirect and may depend on the endothelial generation of nitric oxide. However, in a randomized double-blind study by Broijerssen et al. [37], platelet aggregability of HCH patients without clinical manifestations of arteriosclerosis was found to be unaffected by simvastatin after 10 to 12 weeks of treatment, both at rest and under mental stress. Plasma β -thromboglobulin levels that reflect platelet secretion were not altered by simvastatin either. We believe that such a discrepancy between our study and

blonka a stężeniem lipidów w osoczu (wprawdzie liczba badanych była mała, a obserwacja trwała ok. 3 miesięcy).

Istnieją liczne sugestie, że FMD tętnicy ramieniowej zależy od śródbłonna i jest wywołana głównie przez uwalniany tlenek azotu (NO) [30]. Simwastatyna inkubowana z hodowlami komórek śródbłonna [31], z pierścieniami aorty wołu [32] i z wyisobnionymi sercami szczura [22] wywoływała nasilenie aktywności syntazy tlenu azotu.

W randomizowanej, podwójnie ślepej próbie kontrolowanej placebo przeprowadzonej z zastosowaniem simwastatyny u pacjentów z hipercholesterolemią stwierdzono zwiększoną rozszerzalność tętnicy ramieniowej zależną od śródbłonna. Po 4 tygodniach leczenia simwastatyną odpowiedź naczyniorozszerzająca na acetylocholinę była znacznie zwiększona. Simwastatyna nasilała jednak naczynioskurczową odpowiedź na infuzję L-NMMA (NG-monometylo-L-arginina), natomiast reakcja na naczyniorozszerzające działanie nitroprusydku sodu nie zmieniła się [33], co świadczy, że istotne znaczenie ma podstawowe uwalnianie.

Na podstawie tych badań można stwierdzić, że ten sam mechanizm odpowiada za poprawę funkcji śródbłonna w badaniach przeprowadzonych przez autorów niniejszej pracy. Simwastatyna indukuje poprawę funkcji śródbłonna poprzez zwiększoną ekspresję śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (eNOS), co wpływa na zwiększone wydzielanie NO przez śródbłonek.

Nie można jednak wykluczyć innego mechanizmu. Simwastatyna zmniejsza wydzielanie endoteliny I (ET-1) [34]. Endotelina jest bardzo silnym czynnikiem naczyniokurczącym i obniżenie stężenia ET-1 spowodowane przez simwastatynę może zmniejszać opór naczyniowy i poprawiać przepływ krwi. Endotelina I jest również aktywatorem oksydacyjnego stresu i w ten sposób ogranicza biodostępność tlenu azotu.

W opisanym w niniejszej pracy badaniu terapia simwastatyną aktywowała układ fibrynolityczny 3 godziny po jej przyjęciu, ale wpływ ten zanikał po upływie 12 godzin. W badaniach Undas i wsp. [7] wykazano, że przeciwzakrzepowe działanie simwastatyny po 3 miesiącach leczenia wiąże się z upośledzeniem aktywacji czynnika V, trombiny, czynnika XIII i fibrynogenu. Autorzy sugerują, że wpływ simwastatyny na kaskadę krzepnięcia nie wiąże się jej właściwościami hipolipemizującymi. Wydaje się, że mechanizm działania tego leku na układ fibrynolityczny nie jest całkowicie wyjaśniony. Ta krótkotrwała aktywacja układu fibrynolitycznego przez simwastatynę może wiązać się z zahamowaniem uwalniania inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-1) z płytek krwi przez śródbłonkowy tlenek powodowała obniżenie azotu. We wcześniejszych pracach autorzy

the above study result from the fact that the antiaggregatory effect of simvastatin, if associated with the release of nitric oxide, is likely to be transient whereas the measurements of Broijersen et al. [37] were taken a few hours after ingestion of the drug.

We conclude that simvastatin causes clinical improvement in PAOD patients; however, we realise the limitations of the study (open study design and number of patients). This effect of statins is likely to be independent of lipid lowering properties or additive ones, as it has also been observed in normocholesterolaemic individuals. The positive outcome may be related to functional effects such as plaque stabilization and potential improvement in endothelial function.

Our study suggests that simvastatin therapy is beneficial to PAOD patients independently of lipid levels.

Larger studies conducted for a longer period of time are needed to confirm the efficacy of simvastatin in patients with peripheral arterial occlusive disease.

References

1. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I (1995) for the West of Scotland Coronary Prevention Study Group: Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. *N Engl J Med*, 333: 1301–1307.
2. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group (1994) Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet*, 344: 1383–1389.
3. Corsini A, Bellota S, Baetta R, Fumigalli R, Paoletti R, Bernini F (1999) New insight into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins. *Pharmacol Ther*, 84: 413–428.
4. Lefer AM, Campbell B, Shin YK, Scalia R, Hayward R, Lefer DJ (1999) Simvastatin preserves the ischaemic reperfused myocardium in normocholesterolemic rat hearts. *Circulation*, 100: 178–184.
5. Crouse YR III, Byington RP, Bond MG et al (1995) Pravastatin, lipids and atherosclerosis in the carotid artery (PLAC II). *Am J Cardiol*, 75: 454–459.
6. Essig M, Nguyen G, Prie D, Escoubet B, Sraer FD, Friedlander G (1998) 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors increase fibrinolytic activity in rat aortic endothelial cells: role of genaryl-genarylation and Rho-proteins. *Circ Res*, 83: 683–690.
7. Undas A, Brummel KE, Musiał J, Mann KC, Szczeklik A (2001) Simvastatin depresses blood clotting by inhibiting activation of prothrombin factor and factor Va inactivation. *Circulation*, 103: 2248–2253.
8. Horne BD, Mühlestein JB, Carlquist JF et al (2000) Statin therapy, lipid levels, C reactive protein and the survival of patients with angiographically severe coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*, 36: 1774–1780.
9. Ross R (1999) Atherosclerosis — an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 340: 115–126.
10. Mc Lenachan JM, Williams JK, Fish RD, Ganz P, Selwyn AP (1991) Loss of the endothelium dependent dilation occurs early in the development of atherosclerosis. *Circulation*, 84: 1273–1278.
11. Freeman DJ, Norrie J, Sattar N et al (2001) Pravastatin and the development of diabetes mellitus: evidence for a protective treatment effect in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Circulation*, 103: 357–362.
12. Pedersen TR, Kjekshus J, Pyörälä K et al (1998) Effect of simvastatin on ischemic signs and symptoms in the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). 81: 333–335.

wykazali, że NO hamował uwolnienie PAI-I z płytek krwi [17]. Również molsidomina — donor NO — powodowała obniżenie aktywności PAI-I i zwiększenie stężenia t-PA [35] u zdrowych osobników i u pacjentów z PAOD [36]. W niniejszym badaniu skrócenie ECLT obserwowano u wszystkich pacjentów niezależnie od stężenia lipidów i stopnia uszkodzenia funkcji śródbłonka.

Równocześnie z aktywacją układu fibrynolitycznego simwastatyna powodowała hamowanie spontanicznej agregacji i zmniejszała wrażliwość płytek krwi na ADP i kolagen, szczególnie w grupie osób z HCH. Simwastatyna oraz jej aktywny metabolit inkubowane w osoczu bogatopłytkowym nie wywierały antyagregacyjnego działania [32]. Wydaje się, że przeciwplatekcyjne działanie tego leku pośrednio wiąże się z uwalnianiem NO ze śródbłonka. Natomiast Broijersen i wsp. [37] w randomizowanej podwójnie ślepej próbie u pacjentów z hipercholesterolemią nie stwierdzili antyagregacyjnego działania simwastatyny po 10–12 tygodniach leczenia w spoczynku ani po psychicznym stresie. Stężenie β -tromboglobuliny w osoczu, która jest wskaźnikiem sekrecji płytkowej, również nie zmieniło się. Prawdopodobnie te różnice w badaniach autorów niniejszej pracy i wyżej wymienionych wiążą się z uwalnianiem NO, którego działanie jest krótkotrwałe, a badania Broijersena i wsp. [37] wykonywano kilka godzin po zażyciu leku.

Podsumowując, simwastatyna powoduje kliniczną poprawę u osób z PAOD. Te korzystne efekty obserwuje się niezależnie od hipolipemizującego działania, ponieważ występują też u pacjentów z normocholesterolemią. Pozytywne wyniki leczenia mogą się wiązać z poprawą funkcji śródbłonka i stabilizacją płytek miażdżycowych.

Badania przeprowadzone przez autorów niniejszej pracy sugerują, że simwastatyna wywiera korzystny wpływ u osób zarówno z objawami, jak i bez objawów miażdżycy naczyń obwodowych, niezależnie od stężenia cholesterolu.

Aby potwierdzić terapeutyczne efekty simwastatyny u pacjentów z PAOD konieczne jest przeprowadzenie dłużej trwających badań w większej grupie osób.

13. de Groot E, Jukema JW, Montaloban AD (1998) B-mode ultrasound assessment of pravastatin treatment effect on carotid and femoral artery walls and its correlations with coronary arteriographic findings: a report of the Regression Growth Evaluation Statin Study (Regress). *J Am Coll Cardiol*, 31: 1561–1567.
14. Mondillo S, Balla P, Barbati R et al (2003) Effect of simvastatin on walking performance and symptoms of intermittent claudication in hypercholesterolemic patients with peripheral vascular disease. *Am J Med*, 114: 359–364.
15. Celemajer DS, Sorensen KE, Gooch VM (1992) Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*, 340: 1111–1115.
16. Kaula von KN, Schultz RL (1958) Method for evaluation of human fibrinolysis. *Am J Clin Pathol*, 29: 104–112.
17. Korbut R, Lidbury PS, Vane JR (1990) Prolongation of fibrinolytic activity of tissue plasminogen activator by nitrovasodilators. *Lancet*, 335: 669.
18. Wu KK, Hoak JC (1974) A new method for the quantitative detection of platelet aggregates in patients with arterial insufficiency. *Lancet*, ii: 924–926.
19. Born GVR (1962) Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*, 194: 927–929.
20. Bieroń K, Grodzińska L, Kostka-Trąbka E, Gryglewski RJ (1993) Prostacyclin and molsidomine synergise in their fibrinolytic and anti-platelet actions in patients with peripheral arterial disease. *Wien Klin Wochenschr*, 105: 7–11.
21. Starzyk D, Korbut R, Gryglewski RJ (1999) Effects of nitric oxide and prostacyclin on deformability and aggregability of red blood cells of rats ex vivo and in vitro. *J Physiol Pharmacol*, 50: 629–637.
22. Di Napoli P, Taccaroli A, Grilli A et al (2001) Simvastatin reduces reperfusion injury by modulating nitric oxide synthase expression: an ex vivo study in isolated working hearts. *Cardiovasc Res*, 51: 283–293.
23. Heart Protection Study Collaboration Group: MRC/BHF (2002) Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20 536 high risk individuals: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet*, 360: 7–22.
24. Möhler ER, Hiatt WR, Creager MA Study Investigators (2003) Cholesterol reduction with atorvastatin improves walking distance in patients with peripheral arterial disease. *Circulation* 108: 1481–1486.
25. MAAS Investigators (1994) Effect of simvastatin on coronary atheroma. The Multicentre Anti-Atheroma Study (MAAS). *Lancet*, 344: 633–638.
26. Koon KT, Burton JR, Buller CE et al (2000) Long-term effects of cholesterol lowering and angiotensin converting enzyme inhibition on coronary atherosclerosis. *Circulation*, 102: 1748–1754.
27. Cippolino F, Fazio M, Jessi A et al (2003) Suppression of the functionally coupled cyclooxygenase-2/prostaglandin E synthase as a basis of simvastatin-dependent plaque stabilization in humans. *Circulation*, 107: 1479–1485.
28. Son JW, Koh KK, Ahn IY et al (2003) Effects of statins on plaque stability and thrombogenicity in hypercholesterolemic patients with coronary heart disease. *Int J Cardiol*, 88: 77–82.
29. Sebestjen M, Boh M, Keber L (2002) Simvastatin and pravastatin equally improve flow mediated dilation in males with hypercholesterolemia. *Wien Klin Wochenschr*, 114: 999–1003.
30. Joannides R, Haefelt WE, Linder L et al (1995) Nitric oxide is responsible for flow dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation*, 91: 1314–1319.
31. Laufs U, La Fata VBA, Plutzky J, Liao JK (1998) Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG-CoA Reductase Inhibitors. *Circulation*, 97: 1129–1135.
32. Lorkowska B Doctor's Thesis (2003) Direct pleiotropic effects of statins on blood vessels, platelets and neutrophils.
33. O'Driscoll G, Green D, Taylor R (1997) Simvastatin, an HMG-Coenzyme A Reductase Inhibitor improves endothelial function within 1 month. *Circulation*, 95: 1126–1131.
34. Hernandez-Perera O, Perez Sala D, Soria E, Lamas S (2000) Involvement of Rho GTPases in the transcriptional inhibition of preproendothelin-1 gene expression by simvastatin in vascular endothelial cells. *Circ Res*, 87: 616–622.
35. Grodzińska L, Hafner G, Darius H (1990) Effect of molsidomine on t-PA and PAI activity in man. *Thromb Haemost* 64: 485.
36. Grodzińska L, Kostka-Trąbka E, Bieroń K, Sławiński M, Goszcz A, Ochmański W (1991) Therapeutic effect of molsidomine, NO donor, in patients with atherosclerosis obliterans of the lower limbs. *J Drug Dev*, 4: 39–46.
37. Broijersen A, Eriksson M, Lejd B, Angelin B, Hjerdahl P (1997) NO influence of simvastatin treatment on platelet function in vivo in patients with hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2: 273–278.