

Fluvastatinin Tavşan Karotid Arteri Yaka Modelinde İntimal Kalınlaşma Üzerine Etkileri

Effects of Fluvastatin On Intimal Thickening In Rabbit Carotid Artery Collar Model

Mehmet Zuhuri ARUN ¹, Gülnur SEVİN ², Şule AYL A ³, Gülperi ÖKTEM ⁴
Günay Yetik ANACAK ², Levent ÜSTÜNES ¹

1. Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Klinik Eczacılık Anabilim Dalı, Bornova, İzmir, Türkiye
2. Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir, Türkiye
3. Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Beykoz, İstanbul, Türkiye
4. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir, Türkiye

ÖZET

Amaç: Statinlerin LDL-kolesterol düşürücü etkilerinden bağımsız endotel fonksiyonu gibi aterosklerozun pek çok bileşeni üzerinde de etkileri mevcuttur. Bu etkileri pleiotropik etkileri olarak da bilinmektedir. Bu çalışmada fluvastatinin normokolesterolemik tavşanlarda intimal kalınlaşma üzerine etkisinin araştırılması planlanmıştır.

Gereçler ve Yöntem: Çalışmada Yeni Zelanda tavşanlarına 3 hafta boyunca fluvastatin (8 mg/kg/gün oral) ve plasebo tedavi uygulandı. Tedavinin sekizinci gününde okluzif olmayan silikon bir yaka sol karotid arterinin çevresine yerleştirilerek on dört gün daha tedaviye devam edildi. Deney sonunda sağ ve sol karotid arterler çıkarıldı. Çıkarılan karotid arterlerden alınan kesitlerde morfolometrik ölçümler gerçekleştirildi. İntima, medya, lümen ve eksternal elastik lamina alanları ölçülerek indeks, rezidüel lümen oranı değerleri hesaplandı.

Bulgular: Yaka intimal alan ve indeks değerinde belirgin bir artışa ve RLO değerinde azalmaya neden olurken fluvastatinin yakanın neden olduğu intimal kalınlaşmayı inhibe etti.

Sonuç: Bulgularımız fluvastatinin kolesterol düşürücü etkisinden bağımsız aterosklerozun erken döneminde de yararlı etkileri olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: fluvastatin, statin, intimal kalınlaşma, yaka modeli, karotid arteri

ABSTRACT

Objective: Statins may exert effects that are independent of LDL-cholesterol lowering on many components of atherosclerosis including endothelial function, called pleiotropic effects. In this study we aimed to investigate effects of fluvastatin on intimal thickening in normocholesterolemic rabbits.

Material and Methods: New Zealand rabbits were treated with fluvastatin (8 mg/kg/day, p.o.) and placebo for 3 weeks. On the 8th day, a non-occlusive silicon collar was positioned around the left carotid artery for 14 days and then both carotid arteries were isolated. Intimal, medial, lumen and external elastic lamina cross sectional areas were measured by computer based morphometric analysis and index (intima/media), residual luminal ratio (RLR) values were calculated.

Results: Collar caused significant increase in intimal area, index values and decrease in RLR values. Fluvastatin treatment significantly inhibit collar-induced intimal thickening.

Conclusion: These findings indicate that fluvastatin may have beneficial effects on the early stages of normocholesterolemic atherosclerosis.

Keywords: fluvastatin, statins, intimal thickening, collar, carotid artery

GİRİŞ

Ateroskleroz çeşitli kardiyovasküler hastalıklar ve inmenin en başta gelen nedenini oluşturan ilerleyici kronik bir arter hastalığıdır [1]. Hipertansiyon, sigara içme, diyabet, hiperlipidemi, kronik böbrek rahatsızlığı gibi çeşitli riski faktörleri ateroskleroz ile doğrudan ilişkilidir [1]. İntimal kalınlaşma aterosklerozun ilk basamağıdır. Kontrolsüz düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonunun bir sonucu olarak ortaya çıkar [2]. Tavşan karotid arteri yaka modeli intimal kalınlaşma patofizyolojisini tanımlama ve buna karşı yeni tedavi stratejilerinin araştırılmasına olanak tanıyan bir modeldir. Yaka uygulamasını takiben intimal kalınlaşma 14 günde maksimuma ulaşır [3]. Statinlerin primer ve sekonder kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde etkili olduğunu gösteren pek çok klinik çalışma mevcuttur [4]. Statinler 3-hidroksi-metilglutaril koenzim A (HMG-CoA) redüktaz enzimini inhibe ederek kolesterol biyosentezini engellerler ve serum LDL ve trigliserit düzeylerinde azalmaya neden olurlar. Ancak bu ilaç grubunun kardiyovasküler hastalıklar üzerine yararlı etkileri sadece lipit profili üzerine etkileri ile açıklanamamaktadır. Statinlerin lipit düşürücü etkisinden bağımsız endotelium, vasküler düz kas ve miyokart üzerinde antioksidan, antiinflamatuvar gibi pleiotropik etkileri de mevcuttur [4].

AMAÇ

Tüm bu bilgiler ışığında çalışmamızda aterosklerozun erken döneminde görülen intimal kalınlaşma üzerine fluvastatinin lipit düşürücü etkilerinden bağımsız etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Deney Hayvanları ve *in vivo* ilaç uygulaması

Araştırma protokolü Ege Üniv. Eczacılık Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu (1 Ekim 2007; Sayı: B.30.2.Ege.0.01.00.03/0; Karar No: 2007/03) tarafından onaylanmıştır. Çalışma Laboratuvar Hayvanlarının Bakım Rehberi (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals) ve Orman ve Su İşleri

İletişim Bilgileri

Sorumlu Yazar: Mehmet Zuhuri ARUN

Yazışma Adresi: Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Klinik Eczacılık Anabilim Dalı Bornova, İzmir

E-posta: mehmet.arun@ege.edu.tr

Tel: +90 (232) 311 32 88 **Gsm:** +90 (532) 655 74 95

Makale Geliş Tarihi: 23.02.2018

Makale Kabul Tarihi: 07.03.2018

DOI: http://dx.doi.org/10.16948/zktpb.397803

Bakanlığı Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmeliği hükümlerine ve ilkelerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda 2.0 – 3.0 kg ağırlığında Yeni Zellanda erkek tavşanlar kullanıldı. Hayvanlar deney öncesinde ve deney protokolü boyunca standart diyetle beslendi ve serbestçe su içmelerine izin verildi.

Deney hayvanları plasebo ve fluvastatin tedavi grubu olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Fluvastatin tedavi grubundaki tavşanlara (fluvastatin grubu) 8 mg/kg/gün fluvastatin uygulandı. Uygulama distile su içinde süspansiyon halinde 8 mg/ml konsantrasyonunda taze hazırlanan fluvastatin oral besleme kateteri kullanılarak verildi. İlaç uygulamasına yaka yerleştirme operasyonundan 1 hafta önce başlandı ve yaka uygulaması sonrasında tedavi 14 gün boyunca devam etti. Tedavi grubuna uygulanan işlemler distile su kullanılarak plasebo grubuna da aynen uygulandı.

Tavşan Karotid Arteri Yaka Modeli

Anestezi (sodyum pentobarbital, 30 mg/kg i.v.) edilen hayvan uygun şekilde sabitlendi. Her iki karotid arter ayrı ayrı açığa çıkarıldı ve çevre dokularından temizlendi. Sol karotid arter çevresine inert tıbbi silikondan hazırlanan oklüzif olmayan, esnek silikon bir yaka yerleştirildi.

Sağ kontralateral karotid arter benzer şekilde manüple edilerek yalancı cerrahi operasyon uygulandı. 14 günün sonunda deneye alınan hayvanlar yüksek doz anestezi ile ötanazi edildikten sonra öldürüldü ve her iki karotid arter izole edilerek çıkarıldı. Yaka uygulanmış sol karotid arterde yakanın kapsadığı alandan ve kontralateral karotid arterde buna karşı gelen bölgeden alınan damar örnekleri formalin çözeltili içinde saklandı.

Morfometrik Ölçümler

Formalin ile daha önceden bir gün süre ile fikse edilen dokular tamamlanan doku takip işlemi sonrası parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan poli-L-lizin kaplı lamlara, 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Her bir damar segmentindeki alanlar bir Nikon Eclipse 200 (Nikon, A.B.D) mikroskopi sistemi kullanılarak 4x büyütmede bilgisayar ortamına aktarıldı. Alınan görüntülerde intima ve medya alanları ImageJ v.1.37 (National Institute of Health, A.B.D) yazılımı kullanılarak piksel kare cinsinden ölçüldü ve Thoma lamı referans alınarak mm²'ye dönüştürüldü.

Tüm istatistiksel değerlendirmeler mm² üzerinden gerçekleştirildi. İntimal kalınlaşmanın belirlenmesinde intima/medya oranı (indeks) kullanıldı [3]. Lümen ve eksternal elastik lamina ölçümlerinde damar segmentinin gerçek bir çemberi temsil ettiği kabul edilerek ölçülen çevresinden yararlanılarak hesaplandı. İntimal kalınlaşmanın damar geometrisi ve lümen alanı üzerine etkilerini incelemek için rezidüel lümen oranı (RLO; lümen/(lümen+intima)) değeri hesaplandı [5].

İstatistiksel Analizler

Veriler ortalama ve ortalamanın standart hatası olarak sunulmuştur. İstatistiksel analizlerde fluvastatin ve yakanın etkilerini incelemek amacı ile iki yönlü ANOVA testinden yararlanıldı. Bağımsız faktörler arasında etkileşme meydana geldiğinde eşleştirilmiş ve eşleştirilmemiş Student t-testinden yararlanıldı. İstatistiksel analizlerde GraphPad Prism 4.03 (GraphPad Inc., A.B.D.) yazılımı kullanıldı.

BULGULAR

Lümen

Gerek yaka uygulaması gerekse fluvastatin tedavisi lümen alanı üzerinde herhangi bir değişiklik oluşturmadı (Şekil 1A; Tablo 1).

Medyal Alan

Yaka uygulanmasını izleyen on dördüncü günde ölçülen medya alanları değerlendirildiğinde gerek yaka gerekse fluvastatin tedavisi istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmadı (Şekil 1B; Tablo 1).

Eksternal elastik lamina alanı

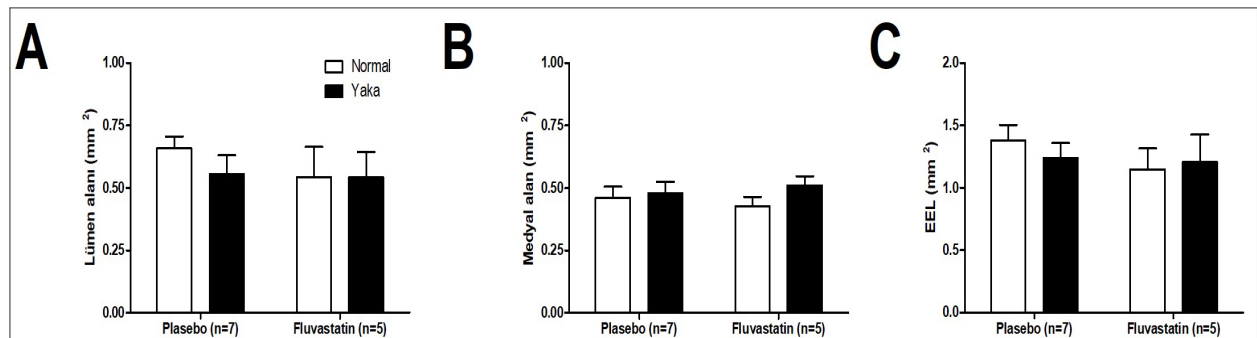
Gerek yaka uygulaması gerekse fluvastatin tedavisi eksternal elastik lamina alanı üzerinde bir değişiklik oluşturmadı (Şekil 1C; Tablo 1).

İntimal alan

14 gün süre ile yaka uygulaması intimal kalınlaşmada belirgin bir artışa neden oldu. Fluvastatin tedavisi yakanın neden olduğu bu intimal kalınlaşmayı istatistiksel olarak anlamlı şekilde inhibe etti (Şekil 2A; Tablo 2).

İndeks değeri ve Rezidüel lümen oranı

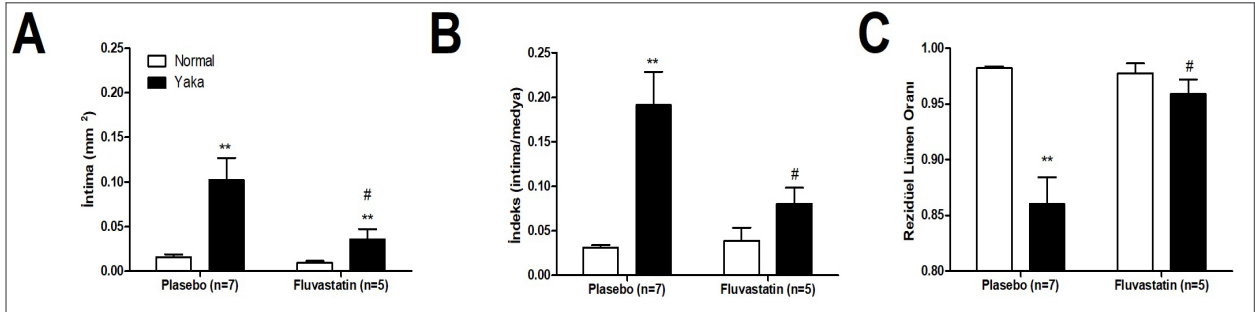
İntimal kalınlaşmadaki artış ile uyumlu olarak yaka indeks değerinde artmaya ve rezidüel lümen oranında azalmaya neden oldu. Fluvastatin tedavisi yakanın neden olduğu indeks değerindeki artışı ve rezidüel lümen oranındaki azalmayı engellemiştir (Şekil 2B ve C; Tablo 2).



Şekil 1: Yaka uygulamasından 14 gün sonra plasebo ve fluvastatin tedavi gruplarından alınan arter kesitlerinde hesaplanan lümen (A), medya (B) ve eksternal elastik lamina (EEL) alanları. Veriler ortalama ± ortalamanın standart hatası olarak gösterilmiştir. n: her bir gruptaki hayvan sayısı.

	Lümen (mm ²)		Medya (mm ²)		EEL (mm ²)	
	Plasebo (n=7)	Fluvastatin (n=5)	Plasebo (n=7)	Fluvastatin (n=5)	Plasebo (n=7)	Fluvastatin (n=5)
Normal	0.6577 ± 0.04718	0.5428 ± 0.1214	0.4609 ± 0.04507	0.4269 ± 0.03765	1.380 ± 0.1210	1.150 ± 0.1656
Yaka	0.5560 ± 0.07400	0.5420 ± 0.1028	0.4805 ± 0.04376	0.5105 ± 0.03598	1.238 ± 0.1207	1.206 ± 0.2195
<i>Varyans analizindeki faktörlerin istatistiksel anlamlılık düzeyleri</i>						
Yaka	0.5438		0.2819		0.7812	
Fluvastatin	0.4466		0.9660		0.4026	
Etkileşim: Yaka ile gün arasında	0.5502		0.4996		0.5233	

Tablo 1: Yaka uygulamasından 14 gün sonra plasebo ve fluvastatin tedavi gruplarından alınan arter kesitlerinde hesaplanan lümen ve medyal alan ve eksternal elastik lamina alanı (EEL). Veriler ortalama ± ortalamanın standart hatası olarak gösterilmiştir. n: her bir gruptaki hayvan sayısı.



Şekil 2: Yaka uygulamasının ve fluvastatin tedavisinin intimal kalınlaşma üzerine etkileri. A) İntimal alan: ** P ≤ 0.01 yaka ile normal; # P ≤ 0.05 plasebo ile fluvastatin; iki yönlü ANOVA B) indeks değerleri: ** P ≤ 0.01 yaka ile normal; # P ≤ 0.05 plasebo ile fluvastatin; iki yönlü ANOVA sonrası eşleştirilmiş ve eşleştirilmemiş t-testi. C) Rezidüel lümen oranı: ** P ≤ 0.01 yaka ile normal; # P ≤ 0.05 plasebo ile fluvastatin; iki yönlü ANOVA sonrası eşleştirilmiş ve eşleştirilmemiş t-testi. Veriler ortalama ± ortalamanın standart hatası olarak gösterilmiştir. n: her bir gruptaki hayvan sayısı.

	İntima (mm ²)		İndeks		RLO	
	Plasebo (n=7)	Fluvastatin (n=5)	Plasebo (n=7)	Fluvastatin (n=5)	Plasebo (n=7)	Fluvastatin (n=5)
Normal	0.02309 ± 0.0053	0.017806 ± 0.0009	0.03108 ± 0.0028	0.03883 ± 0.1495	0.9819 ± 0.0019	0.9776 ± 0.0087
Yaka	0.1020 ± 0.0053	0.03813 ± 0.0093	0.1914 ± 0.0372	0.0804 ± 0.0181	0.8600 ± 0.02410	0.9588 ± 0.01305
<i>Varyans analizindeki faktörlerin istatistiksel anlamlılık düzeyleri</i>						
Yaka	0.0014		0.0005		0.0007	
Fluvastatin	0.0253		0.0475		0.0139	
Etkileşim: Yaka ile gün arasında	0.0593		0.0247		0.0081	

Tablo 2: Yaka uygulamasından 14 gün sonra plasebo ve fluvastatin tedavi gruplarından alınan arter kesitlerinde intimal alan ve indeks değerleri ve rezidüel lümen oranları. Veriler ortalama ± ortalamanın standart hatası olarak gösterilmiştir. n: her bir gruptaki hayvan sayısı.

TARTIŞMA

Çalışmamız tavşan karotid arteri yaka modelinde 8 mg/kg/gün dozunda fluvastatin tedavisinin intimal kalınlaşmayı önemli ölçüde inhibe ettiğini göstermiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular fluvastatinin ve statinlerin aterosklerotik lezyonlar üzerine olumlu etkilerinin bildirildiği diğer deneysel ve klinik çalışmaları desteklemektedir.

Çalışmamızda yaka uygulaması lümen ve medya alanlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Bu bulgumuz bu modelde yapılan diğer çalışmalar ile uyumludur [6-8]. Çalışmamızda gerek yaka gerekse fluvastatinin damar morfometrisi üzerine etkilerini incelemek için RLO ve EEL değerleri hesaplanmıştır [5]. Vasküler hasar sonrası son ve en önemli süreç intimal kalınlaşmadır [9]. EEL değerlerinde yaka uygulanan damarlarda bir değişiklik olmaması ve RLO değerinde meydana gelen azalma yaka modeli ile meydana gelen morfometrik değişikliğin içe yönelik bir vasküler modellenme olduğuna işaret etmektedir [9]. Yaka ve fluvastatin tedavisinin RLA ve EEL değerleri üzerine etkilerini incelediğimiz de

elde ettiğimiz bulgular fluvastatinin intimal kalınlaşma üzerine direkt etkisini doğrulamakta ve vasküler yeniden modellenme üzerine de olumlu etkileri olabileceğine işaret etmektedir. Hiperkolesterolemik deneysel ateroskleroz modellerinde statinlerin etkilerini inceleyen çalışmalar mevcuttur. Statinlerin antiinflamatuar etkilerinin olduğu, endotel yanıtlarını artırdığı ve kollojen yıkımını engellediği bildirilmiştir [10]. İlginç olarak yapılan başka bir çalışmada da fluvastatin tavşanlara kolesterol düzeyini etkilemeyecek bir dozda verilmesine rağmen plak oluşumunu azalttığı ve MCP-1, IL-1 ve MMP düzeylerinde anlamlı azalmalara neden olduğu gösterilmiştir [11]. Fluvastatinin LDL oksidasyonu üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada da 20 mg/kg dozda uygulandığında genetik olarak hiperlipidemik tavşanlarda LDL oksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir [12]. Yakın zamanda yapılan başka bir çalışmada da fluvastatinin hiperkolesterolemiye bağlı oksidatif hasarı engelleyebildiği ve oksidatif strese karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir [13]. Fluvastatinin intimal kalınlaşma üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalar hiperkolesterolemi modeli ile sınırlı değildir. 20 mg/kg gibi yüksek dozlarda fluvastatinin intimal

kalınlaşmayı inhibe ettiği gösterilmiştir [14]. Ayrıca normokolesterolemik tavşanlarda yakanın neden olduğu intimal kalınlaşma üzerine statinlerin etkilerinin incelendiği bir çalışmada yine 20 mg/kg dozda fluvastatinin intimal kalınlaşmayı inhibe ettiği bildirilmiştir [15]. Çalışmamız, normokolesterolemik koşullarda fluvastatinin kolesterol düzeylerini etkilemediği çok düşük dozlarda bile intimal kalınlaşmayı geri çevirdiğini bildiren ilk çalışmadır. Statinlerin ve özellikle fluvastatinin dozları etkilerinin değerlendirilmesinde belirleyici bir rol oynayabilir. Yakın zamanda sıçanlarda yapılan bir çalışma düşük doz fluvastatin'in iskemi-reperfüzyon hasarının ve endotel disfonksiyonunun önlenmesinde çok daha etkili olabileceği ve pleiotropik etkilerinin doza bağlı olarak değişiklik gösterebileceği bildirilmiştir [16]. Benzer şekilde düşük doz fluvastatinin vasküler fonksiyon üzerine olumlu etkilerinin gösterildiği klinik bir çalışma da bu yöndeki bulguları desteklemektedir [17]. Tavşan karotid arteri yaka modelinde gerek düşük doz gerekse de yüksek doz fluvastatinin etkilerinin moleküler düzeyde karşılaştırılmasına yönelik yapılabilecek ileri düzey çalışmaların gerek statinlerin pleiotropik etkilerinin daha net anlaşılmasına ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesine yönelik yeni tedavi stratejileri geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

Endotel disfonksiyonunun intimal kalınlaşma üzerindeki rolü iyi bilinmektedir [18]. Yaka uygulanan damarların endotel tabakasında fiziksel olarak herhangi bir hasar olmamasına rağmen endotel kaynaklı gevşemeler yaka yerleştirilmesini takip eden ilk günlerde önemli oranda inhibe olmaktadır [6, 19]. Yaka modelinde inflamasyon önemli bir rol oynar ve endotel disfonksiyonun gelişmesinde intimal kalınlaşmanın daha ilk saatlerinde ortaya çıkan polimorfonükleer lökosit (PMN) infiltrasyonunun ve buna bağlı olarak artan oksidatif stresin önemli bir rolü olabilir [20]. Fluvastatinin PMN aracılı endotel disfonksiyonu önemli ölçüde inhibe edebildiği de bilinmektedir [21]. Hiperkolesterolemik tavşanlarda da fluvastatinin tedavinin endotel kaynaklı gevşemeleri normalize ettiği gösterilmiştir [22]. Bu bağlamda fluvastatinin intimal kalınlaşmayı inhibe edici etkisinde endotelyum üzerindeki koruyucu etkilerinin önemli bir rolü olabilir.

Fluvastatinin çeşitli inflamasyon süreçleri üzerine etkilerini gösteren pek çok çalışma vardır [23]. İntimal kalınlaşma ve inflamasyon arasındaki ilişki iyi bilinmektedir [24]. Yaka uygulaması iNOS, ICAM-1 ve VCAM-1 ekspresyonlarında artışa neden olur [20]. Çeşitli deneysel çalışmalarda fluvastatinin iNOS, IL-6, ICAM-1, P-selektin ve inflamasyonda rol oynayan daha birçok mediyatörün gen ekspresyon düzeylerini azalttığı da gösterilmiştir [25]. Bu çalışmalar ışığında kullandığımız bu deneysel modelde fluvastatinin antiinflamatuvar etkileri de intimal kalınlaşmanın önlenmesinde katkıda bulunmuş olabilir.

Çalışmamızda kullandığımız yaka modelinde olduğu gibi normokolesterolemik koşullarda düşük doz fluvastatin tedavisinin intimal kalınlaşmayı önlediği

gösterilmiştir. Bulgularımız, düşük doz statin tedavisi ile ilgili yapılacak ileri çalışmaların kardiyovasküler olayların önlenmesine yönelik yeni tedavi stratejileri geliştirmesine katkıda bulunabileceğine işaret etmektedir.

Teşekkür: Bu çalışma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (05/Ecz/018 ve 06/Ecz/014) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Herrington, W., et al., *Epidemiology of Atherosclerosis and the Potential to Reduce the Global Burden of Atherothrombotic Disease*. *Circ Res*, 2016. 118(4): p. 535-46.
- Davies, M.G. and P.O. Hagen, *Pathobiology of intimal hyperplasia*. *Br J Surg*, 1994. 81(9): p. 1254-69.
- Booth, R.F., et al., *Rapid development of atherosclerotic lesions in the rabbit carotid artery induced by perivascular manipulation*. *Atherosclerosis*, 1989. 76(2-3): p. 257-68.
- Oesterle, A., U. Laufs, and J.K. Liao, *Pleiotropic Effects of Statins on the Cardiovascular System*. *Circulation research*, 2017. 120(1): p. 229-243.
- Schneider, J.E., et al., *Probucol decreases neointimal formation in a swine model of coronary artery balloon injury. A possible role for antioxidants in restenosis*. *Circulation*, 1993. 88(2): p. 628-637.
- Arun, M.Z., et al., *Effects of vitamin C treatment on collar-induced intimal thickening*. *Drug Des Devel Ther*, 2015. 9: p. 6461-73.
- Ustunes, L., et al., *Effect of verapamil on intimal thickening and vascular reactivity in the collared carotid artery of the rabbit*. *Br J Pharmacol*, 1996. 118(7): p. 1681-8.
- Van Put, D.J., et al., *Dexamethasone influences intimal thickening and vascular reactivity in the rabbit collared carotid artery*. *Eur J Pharmacol*, 1995. 294(2-3): p. 753-61.
- Renna, N.F., N. de Las Heras, and R.M. Miatello, *Pathophysiology of vascular remodeling in hypertension*. *Int J Hypertens*, 2013. 2013: p. 808353.
- Libby, P. and M. Aikawa, *Effects of statins in reducing thrombotic risk and modulating plaque vulnerability*. *Clin Cardiol*, 2003. 26(1 Suppl 1): p. III-4.
- Mitani, H., K. Egashira, and M. Kimura, *HMG-CoA reductase inhibitor: fluvastatin, has cholesterol-lowering independent "direct" effects on atherosclerotic vessels in high cholesterol diet-fed rabbits*. *Pharmacol Res*, 2003. 48(5): p. 417-27.
- Yamaguchi, Y., et al., *Fluvastatin reduces modification of low-density lipoprotein in hyperlipidemic rabbit loaded with oxidative stress*. *Eur J Pharmacol*, 2002. 436(1-2): p. 97-105.
- Sevin, G., et al., *Different responses of fluvastatin to cholesterol-induced oxidative modifications in rabbits: evidence for preventive effect against DNA damage*. *Cell Biochem Funct*, 2013. 31(4): p. 325-32.
- Yamanouchi, D., et al., *Hydrophilic statin suppresses vein graft intimal hyperplasia via endothelial cell-tropic Rho-kinase inhibition*. *J Vasc Surg*, 2005. 42(4): p. 757-64.
- Soma, M.R., et al., *HMG CoA reductase inhibitors. In vivo effects on carotid intimal thickening in normocholesterolemic rabbits*. *Arterioscler Thromb*, 1993. 13(4): p. 571-8.
- Janic, M., et al., *Sub-therapeutic doses of fluvastatin and valsartan are more effective than therapeutic doses in providing beneficial cardiovascular pleiotropic effects in rats: A proof of concept study*. *Vascul Pharmacol*, 2017. 99: p. 45-52.
- Lunder, M., et al., *The effects of low-dose fluvastatin and valsartan combination on arterial function: a randomized clinical trial*. *Eur J Intern Med*, 2012. 23(3): p. 261-6.
- Vanhoutte, P.M., et al., *Endothelial dysfunction and vascular disease - a 30th anniversary update*. *Acta Physiol (Oxf)*, 2017. 219(1): p. 22-96.
- Kockx, M.M., et al., *The endothelium during cuff-induced neointima formation in the rabbit carotid artery*. *Arterioscler Thromb*, 1993. 13(12): p. 1874-84.
- Nicholls, S.J., et al., *Reconstituted high-density lipoproteins inhibit the acute pro-oxidant and proinflammatory vascular changes induced by a periarterial collar in normocholesterolemic rabbits*. *Circulation*, 2005. 111(12): p. 1543-50.
- Sugano, R., et al., *Polymorphonuclear leukocytes may impair endothelial function: results of crossover randomized study of lipid-lowering therapies*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005. 25(6): p. 1262-7.
- Sevin, G., et al., *Low-dose fluvastatin prevents the functional alterations of endothelium induced by short-term cholesterol feeding in rabbit carotid artery*. *ScientificWorldJournal*, 2012. 2012: p. 671728.
- Jin, Y., et al., *Statins decrease lung inflammation in mice by upregulating tetraspanin CD9 in macrophages*. *PLoS One*, 2013. 8(9): p. e73706.
- Kockx, M.M., et al., *Triphasic sequence of neointimal formation in the cuffed carotid artery of the rabbit*. *Arterioscler Thromb*, 1992. 12(12): p. 1447-57.
- Storino Farina, M., et al., *Statins and atherosclerosis: the role of epigenetics*. *Medwave*, 2015. 15(10): p. e6324.