

Efecto de la rosuvastatina sobre el infarto experimental en conejos normales e hipercolesterolémicos

CRISTINA LORENZO CARRIÓN¹, VERÓNICA MIKSZTOWICZ², LUKAS ERNI¹, BRUNO BUCHHOLZ¹, VERÓNICA D'ANNUNZIO^{1,1}, GABRIELA BERG², LAURA SCHREIER, REGINA WIKINSKI², NIDIA BASSO¹

Recibido: 13/09/2007

Aceptado: 28/12/2007

Dirección para separatas:

Cristina Lorenzo Carrión
Instituto de Fisiopatología
Cardiovascular, Facultad de
Medicina, Universidad de
Buenos Aires
J. E. Uriburu 950 - Piso 2
(1114) Buenos Aires, Argentina
Tel. 4508-3606
e-mail: infica@fmed.uba.ar

RESUMEN

Es conocido que el pretratamiento con rosuvastatina disminuye el tamaño del infarto y mejora la disfunción ventricular. Sin embargo, no existe evidencia experimental que demuestre su efecto cuando se administra durante la reperfusión. El objetivo del presente estudio fue evaluar si la rosuvastatina administrada durante la reperfusión modifica el tamaño del infarto y la recuperación de la función ventricular posisquémica en corazones de conejos normocolesterolémicos e hipercolesterolémicos. Corazones aislados e isovolúmicos de conejo fueron perfundidos según la técnica de Langendorff. En el grupo 1 (G1) se realizó una isquemia global de 30 minutos seguidos por 120 minutos de reperfusión. En el grupo 2 (G2) se administró rosuvastatina (50 μ M) durante toda la reperfusión. En los grupos 3 y 4 (G3 y G4) se repitieron los protocolos de G1 y G2, respectivamente, pero en conejos alimentados durante un mes con una dieta rica en colesterol al 1%. El colesterol total antes de iniciar la dieta fue de $59,6 \pm 9,3$ mg/dl y luego de la alimentación durante 4 semanas con una dieta rica en colesterol se incrementó hasta un valor de $185,4 \pm 21,4$ ($p < 0,05$). No hubo diferencias en la recuperación de la presión desarrollada (PDVI) ni en la presión diastólica final del ventrículo izquierdo (PDFVI) en los animales normocolesterolémicos. Sin embargo, en G3 y G4 la administración de rosuvastatina atenuó la disfunción ventricular posisquémica sistólica y diastólica. El tamaño del infarto de G1 y G3 fue de $16,6 \pm 2,6$ y $25,6 \pm 2,7$, respectivamente ($p < 0,05$). La administración de rosuvastatina redujo el tamaño del infarto en G2 y G4 a un valor de $4,5 \pm 1,1$ y $5,5 \pm 1,6$ ($p < 0,05$), respectivamente. La rosuvastatina administrada desde el inicio de la reperfusión disminuye el tamaño del infarto en conejos normales e hipercolesterolémicos y mejora la recuperación de la función ventricular sólo en los animales hipercolesterolémicos.

REV ARGENT CARDIOL 2008;76:118-123

Palabras clave >

Infarto del miocardio - Rosuvastatina - Pirimidinas - Hipercolesterolemia - Función ventricular

Abreviaturas >

eNOS	Óxido nítrico sintetasa endotelial	PDFVI	Presión diastólica final del ventrículo izquierdo
HDL	Lipoproteínas de alta densidad	PDVI	Presión desarrollada del ventrículo izquierdo
LDL	Lipoproteínas de baja densidad	PVI	Presión intraventricular
L-NAME	N ⁶ -nitro-L-arginina metil éster		

INTRODUCCIÓN

Los inhibidores de la enzima HMG-CoA reductasa (estatinas) son drogas con conocida actividad hipolipemiente, que reducen la morbilidad y la mortalidad de causa cardiovascular. (1, 2) En los últimos años ha crecido el interés en el estudio de estos fármacos debido a la descripción de efectos beneficiosos independientes de su capacidad hipolipemiente. (3) Estas acciones incluyen la preservación de la función endotelial, como también la atenuación de los procesos inflamatorios y de proliferación del músculo liso vascular y de fibroblastos. (4, 5) Esto llevó a que se hayan desarrolla-

do y continúen realizándose estudios con el objeto de dilucidar los mecanismos intrínsecos que expliquen los efectos pleiotrópicos de las estatinas. (4, 5)

En diferentes trabajos experimentales se sugiere la existencia de un efecto protector de las estatinas sobre el miocardio sometido a lesión por isquemia y reperfusión. (6, 7) Así, se demostró que el pretratamiento con rosuvastatina, tanto la administración crónica (durante 3 semanas) (6) como aguda (18 horas antes de la isquemia), (7) atenúa el tamaño del infarto y la disfunción ventricular posisquémica en un modelo de corazón aislado de rata. En un estudio diferente, Jones y colaboradores (8) demostraron que

Las autoras primera y segunda participaron en igual medida del trabajo de investigación.

¹ Para optar a Miembro Titular de la Sociedad Argentina de Cardiología

¹ Instituto de Fisiopatología Cardiovascular, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina

² Laboratorio de Lípidos y Lipoproteínas, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina

el pretratamiento con simvastatina (18 h/6 h/3 h/1 h antes de la isquemia) limita el tamaño del infarto y la disfunción posisquémica en ratones. En el mismo sentido, Tiefenbacher y colaboradores (9) demostraron que la administración intravenosa de fluvastatina 20 minutos antes de un episodio de isquemia regional reduce el tamaño del infarto y mejora la recuperación de la función ventricular. Un hecho interesante fue que al administrar L-NAME el efecto protector de la fluvastatina fue abolido, lo que evidencia que la protección alcanzada con la estatina fue a través del aumento de la biodisponibilidad del óxido nítrico.

Sin embargo, en todos estos trabajos las diferentes drogas se administraron antes del evento isquémico y sería más relevante que este tipo de protección se lograra durante la reperfusión. En este sentido, Bell y colaboradores (10) administraron atorvastatina durante el período de reperfusión en un modelo de corazón aislado de ratón, luego de 35 minutos de isquemia global. Estos autores encontraron una reducción significativa del tamaño del infarto. Sin embargo, todos estos estudios se realizaron en animales normales y, al menos en nuestro conocimiento, no existen trabajos que hayan evaluado el efecto de esta droga en animales con comorbilidades como es la hipercolesterolemia. Además, es conocido que aproximadamente el 30-40% de los pacientes con cardiopatía isquémica presentan cierto grado de hipercolesterolemia y, en consecuencia, sería interesante evaluar los efectos de las estatinas, en este caso la rosuvastatina, en animales normocolesterolémicos e hipercolesterolémicos y con la administración de la droga durante la reperfusión.

El presente trabajo se llevó a cabo con el objetivo de evaluar si la administración de rosuvastatina durante la reperfusión modifica el tamaño del infarto y las alteraciones de la función ventricular, luego de 30 minutos de isquemia global en animales normales e hipercolesterolémicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron conejos neozelandeses machos (1,8–2,0 kg), que se asignaron aleatoriamente a dos tipos de dieta: 20 animales fueron alimentados con dieta estándar y otros 18 recibieron una dieta enriquecida con colesterol (1% colesterol) por 4 semanas. Luego de finalizada la dieta, se sacrificaron los animales, se extrajo el corazón y se colocó en un sistema de perfusión para órgano aislado según la técnica de Langendorff. El corazón se perfundió con solución de Krebs-Henseleit compuesta de NaCl 118,5 mM, KCl 4,7 mM, NaHCO₃ 24,8 mM, KH₂PO₄ 1,2 mM, MgSO₄ 1,2 mM, CaCl₂ 2,5 mM y glucosa 10 mM, que fue termostatazada a 37 °C y equilibrada con una mezcla de 95% O₂ - 5% CO₂ para obtener un pH de 7,45 ± 0,02.

En el ventrículo izquierdo se colocó un balón de látex conectado a través de un tubo rígido de polietileno a un transductor de presión Deltram II (Utah Medical System); esto permite medir la presión intraventricular (PVI). El balón de látex se llenó con solución acuosa hasta lograr una presión diastólica final (PDFVI) de 8-12 mm Hg y este volumen se mantuvo constante durante todo el experimento. Se

evaluaron los cambios en la PDFVI como un índice de rigidez miocárdica. En este sentido, si se considera que la rigidez ventricular se expresa a través de la relación dP/dV , en un modelo de corazón isovolúmico, la PDFVI es índice de rigidez ventricular. También se evaluó el estado contráctil a través de la presión desarrollada del ventrículo izquierdo (PDVI), la cual se calculó restando la PDFVI a la presión ventricular sistólica pico. El flujo coronario y la frecuencia cardíaca se mantuvieron constantes durante todo el experimento, con una bomba de perfusión y un marcapasos, respectivamente.

Medición del tamaño del infarto

Al finalizar la evaluación de la función ventricular, los corazones se perfundieron durante 2 horas y posteriormente se congelaron. Luego se cortaron de punta a base y se incubaron en una solución de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (1%). Luego, las áreas de infarto se midieron con empleo de planimetría computarizada (Analizador de imágenes: Image Pro Plus®, versión 4.5). El tamaño del infarto se expresa como porcentaje del área del ventrículo izquierdo.

Análisis bioquímico

Se obtuvieron muestras de sangre antes de finalizada la dieta y después de concluida. Se midieron las concentraciones de colesterol total, el colesterol LDL y el colesterol HDL. (8)

Protocolos experimentales en animales normales

Grupo 1 (G1; n = 10): en corazones de animales normales se realizó una isquemia global de 30 minutos seguida de un período de reperfusión de 30 minutos. La isquemia global se logró con cese del flujo coronario tras el cierre brusco de la bomba de perfusión peristáltica.

Grupo 2 (G2; n = 10): en corazones de animales normales desde el inicio del período de reperfusión y durante 30 minutos se administró rosuvastatina (50 μ M).

Grupo 3 (G3; n = 10): se repitió el protocolo del G1, pero en animales alimentados durante 4 semanas con una dieta rica en colesterol (1%).

Grupo 4 (G4; n = 8): se repitió el protocolo del G2, pero en animales alimentados durante 4 semanas con una dieta rica en colesterol (1%).

Análisis estadístico

Los resultados se expresan como la media \pm error estándar (EE) y los datos se analizaron por ANOVA de dos vías seguido por la prueba de Bonferroni para comparaciones múltiples. Se consideró una diferencia significativa cuando el valor de p fue menor de 0,05.

RESULTADOS

En los animales alimentados con una dieta enriquecida con colesterol se observó un incremento significativo de los niveles de colesterol total desde 61,6 \pm 9,3 mg/dl, antes de comenzar la dieta, hasta 284,4 \pm 45,4 mg/dl a las 4 semanas (p < 0,05). El colesterol LDL aumentó desde 21,5 \pm 2,3 mg/dl hasta 158,5 \pm 37,2 mg/dl (p < 0,05). Por último, el colesterol HDL no se modificó en forma significativa.

En la Figura 1 se muestran los valores de presión desarrollada del ventrículo izquierdo (panel superior) y de presión diastólica final (panel inferior) en situación basal y durante diferentes tiempos de la reperfusión en el grupo de animales alimentados con una dieta normal. En el grupo control, la PDVI disminuyó

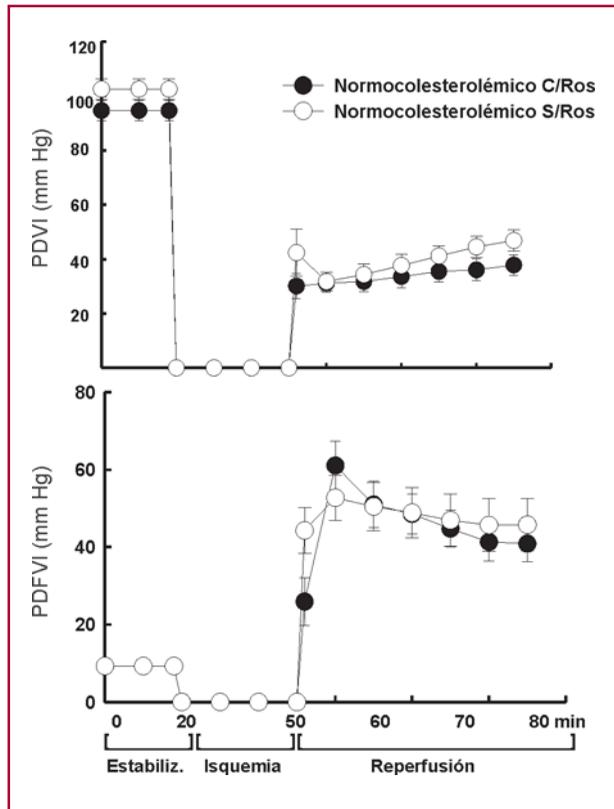


Fig. 1. En el panel superior se muestra el comportamiento de la presión desarrollada del ventrículo izquierdo (PDVI) en los animales normocolesterolémicos. No se observaron diferencias significativas entre los dos grupos estudiados. En el panel inferior se grafica la presión diastólica final del ventrículo izquierdo (PDFVI). Tampoco se observaron diferencias en este índice de función diastólica. Ros: Rosuvastatina. Estabiliz.: Estabilización.

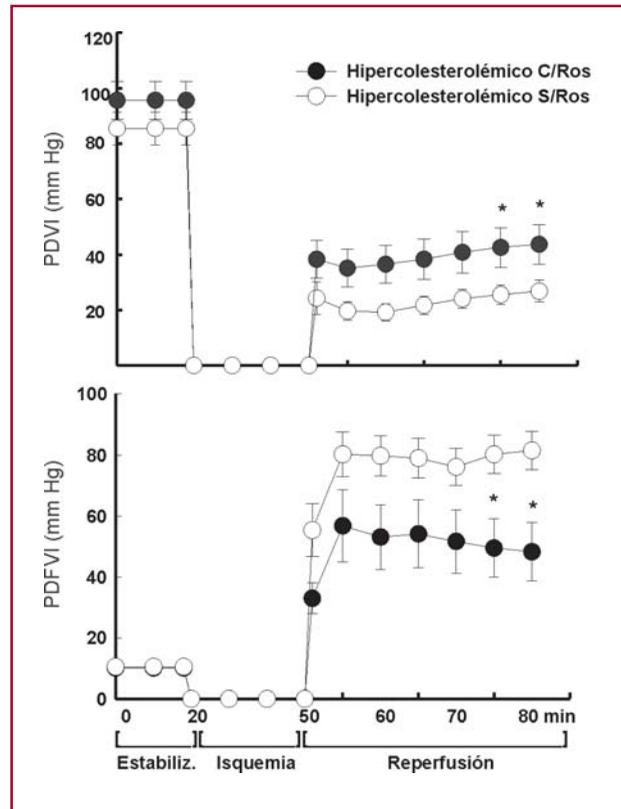


Fig. 2. En el panel superior se muestra el comportamiento de la PDVI en los animales hipercolesterolémicos. Durante la reperusión se observa una mejoría significativa del estado contráctil en el grupo al cual se le administró rosuvastatina. En el panel inferior se grafica el comportamiento de la rigidez miocárdica (PDFVI); en el grupo con rosuvastatina se observa una PDFVI menor durante la reperusión, indicativa de menor rigidez miocárdica. Ros: Rosuvastatina. Estabiliz.: Estabilización. * $p < 0,05$ versus hipercolesterolémico sin ros.

durante la reperusión desde un valor de $94,6 \pm 3,6$ hasta $37,7 \pm 3,8$ mm Hg a los 30 minutos de la reperusión. La administración de rosuvastatina no modificó las alteraciones del estado contráctil, con una disminución de la PDVI desde un valor de $102,5 \pm 3,7$ hasta $43,7 \pm 7,9$ mm Hg a los 30 minutos de la reperusión. La PDFVI (rigidez miocárdica) se incrementó durante la reperusión en ambos grupos, sin que se observaran diferencias entre ellos.

La Figura 2 muestra el comportamiento de la función ventricular en los grupos de animales alimentados con una dieta rica en colesterol. En el panel superior se grafica la PDVI, la cual disminuye significativamente durante la reperusión desde un valor de $85,5 \pm 5,9$ hasta $26,7 \pm 3,9$ mm Hg a los 30 minutos de la reperusión. Sin embargo, la administración de rosuvastatina atenuó el deterioro del estado contráctil, que alcanzó un valor de $48,3 \pm 9,6$ mm Hg hacia el final de la reperusión ($p < 0,05$). En el panel inferior puede verse el comportamiento de la rigidez miocárdica evaluado a través de la PDFVI. En el grupo control, sometido a 30 minutos de isquemia, se produjo un

incremento significativo de esta variable desde un valor de $10,5 \pm 0,3$ hasta $81,5 \pm 6,3$ mm Hg hacia el final de la reperusión. De manera interesante, la administración de rosuvastatina atenuó este incremento al alcanzar un valor de $48,3 \pm 9,6$ mm Hg a los 30 minutos de la reperusión.

En la Figura 3 se muestra el tamaño del infarto luego de 30 minutos isquemia. En los corazones normales, el tamaño del infarto fue del $16,6\% \pm 2,6\%$, mientras que en los corazones de animales hipercolesterolémicos fue del $25,6\% \pm 2,7\%$ ($p < 0,05$ versus normal control). La administración de rosuvastatina redujo el área de infarto en ambos grupos (normales e hipercolesterolémicos), hasta un valor de $4,5 \pm 0,9\%$ y $5,5 \pm 1,6\%$, respectivamente ($p < 0,05$ versus control).

DISCUSIÓN

En este trabajo hemos demostrado que la administración aguda de rosuvastatina, desde el inicio de la reperusión, disminuye significativamente el tamaño del

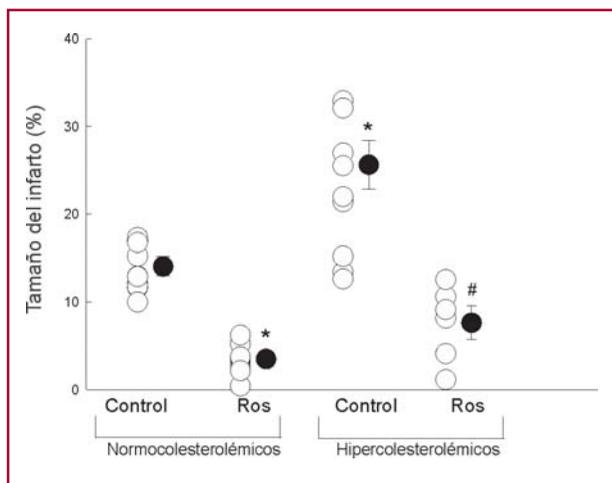


Fig. 3. Tamaño del infarto expresado como porcentaje del área del ventrículo izquierdo. La administración de rosuvastatina disminuyó en forma significativa el tamaño del infarto tanto en los animales normales como en los hipercolesterolémicos. * $p < 0,05$ versus control normocolesterolémico. # $p < 0,05$ versus control hipercolesterolémico. ○: representan los experimentos individuales. ●: representan la media y el error estándar de cada grupo.

infarto en los animales normocolesterolémicos e hipercolesterolémicos. Además, hemos evidenciado una mejoría significativa en la recuperación del estado contráctil y una atenuación en el incremento de la rigidez miocárdica sólo en los corazones de los animales hipercolesterolémicos.

Estos hallazgos extienden las observaciones realizadas por otros grupos (6, 7) que describieron los efectos beneficiosos de la rosuvastatina sobre el tamaño del infarto.

Sin embargo, en esos trabajos la estatina se administró en forma previa a la isquemia. Al administrar la droga al inicio de la reperfusión y encontrar un grado de protección similar, nuestros hallazgos son más extrapolables al ámbito clínico. Dado que la intervención se aplica durante el período de reperfusión, una vez instaurado el evento isquémico, esta cardioprotección podría extrapolarse al ámbito clínico particularmente en pacientes sometidos a terapias de reperfusión. Sin embargo, algunos autores administraron estatinas luego del evento isquémico. Así, Bauersachs y colaboradores (11) administraron cerivastatina 24 horas luego del infarto de miocardio en ratas y no pudieron demostrar una reducción en el tamaño del infarto.

Nuestros resultados concuerdan con los de Bell y colaboradores, (10) quienes administraron atorvastatina en agudo, durante el período de reperfusión. En este caso, estos autores utilizaron un modelo de corazón aislado de ratón y encontraron una reducción significativa del tamaño del infarto luego de 35 minutos de isquemia global.

Una diferencia importante con trabajos previos es que en nuestro estudio utilizamos animales normales

e hipercolesterolémicos, lo cual lo hace relevante para una posible extrapolación clínica. En este sentido, y de interés, los animales hipercolesterolémicos presentaron un tamaño del infarto mayor respecto de los normales. (12, 13) Este hallazgo, descrito por otros autores, (12, 13) se ha atribuido a varios factores, entre los que se describen la presencia de disfunción endotelial, (12) un aumento en la expresión de moléculas de adhesión endotelial (13) y alteraciones en la homeostasis del calcio. (14) En un trabajo previo demostramos que la dieta utilizada en este estudio para lograr hipercolesterolemia provoca disfunción endotelial, evaluada con la administración de acetilcolina. Importa destacar que esta disfunción del endotelio se presenta sin lesiones histopatológicas en las arterias coronarias; en consecuencia, este modelo representa un estadio inicial del proceso de aterosclerosis. (15)

Una diferencia importante observada en nuestro trabajo es el hecho de que la mejoría en la recuperación de la función ventricular sólo se observó en los corazones de los animales hipercolesterolémicos. Si bien no hemos analizado los posibles mecanismos que expliquen este hallazgo, podemos plantear alguna hipótesis. Al tener los animales hipercolesterolémicos un tamaño del infarto mayor, el porcentaje de reducción alcanzado luego del tratamiento con rosuvastatina es significativamente mayor que el obtenido en los animales normales. Por lo tanto, es probable que la mejoría en la recuperación de la función ventricular se deba a esta reducción en el tamaño del infarto.

Si bien en el presente estudio no hemos estudiado los mecanismos involucrados en el fenómeno de protección de la rosuvastatina, podemos hacer algunas especulaciones al respecto.

En este sentido, Maron y colaboradores (16) demostraron que las estatinas aumentan la biodisponibilidad de óxido nítrico (NO) a nivel ventricular. Las estatinas incrementarían la actividad de la eNOS por activación de la enzima PI3-kinasa/Akt, lo cual lleva a la fosforilación del residuo serina 1177 de la eNOS. (17, 18) Así, la activación de la eNOS, a través de la fosforilación de la PI3-kinasa/Akt, podría ser responsable de la reducción del tamaño del infarto cuando la droga se administra en la reperfusión, ya que se ha mostrado que este mecanismo puede ser activado en minutos. (17)

Dadas las características de la atorvastatina y de la rosuvastatina, es posible que compartan mecanismos protectores similares. Sin embargo, estos mecanismos deberían estudiarse en profundidad para elucidar los efectos protectores de la rosuvastatina.

CONCLUSIÓN

El presente trabajo muestra que la rosuvastatina administrada durante la reperfusión disminuye significativamente el tamaño del infarto en los animales normocolesterolémicos e hipercolesterolémicos. Ade-

más, se evidenció una mejoría significativa en la recuperación del estado contráctil y una atenuación en el incremento de la rigidez miocárdica sólo en los corazones de los animales hipercolesterolemicos. Dado que la administración de la rosuvastatina fue durante el período de la reperfusión, este hallazgo podría ser más extrapolable al ámbito clínico, en comparación con los trabajos que administran la droga en forma previa a la instauración de la isquemia.

SUMMARY

Effects of Rosuvastatin on Experimental Infarction on Normal and in Hypercholesterolemic Rabbits

It is well accepted that previous treatment with rosuvastatin may reduce infarct size and improve ventricular dysfunction. Nevertheless, there is no experimental evidence of this action when administered during reperfusion. The objective of the present study was to assess if the administration of rosuvastatin during reperfusion might modify not only the infarct size but also ventricular function recovery after an ischemic episode in normocholesterolemic and hypercholesterolemic rabbits. Isolated and isovolumetric rabbit hearts were perfused according to Langendorff technique. Rabbits in group 1 (G1) underwent a 30-minute global ischemia followed by a reperfusion lasting for 120 minutes. Rosuvastatin (50 µM) was administered to rabbits in group 2 (G2) throughout the whole reperfusion. Protocols G1 and G2 were repeated in groups 3 and 4 (G3 and G4), respectively, but in rabbits previously fed for a month with a 1% cholesterol-rich diet. Total cholesterol levels were 59.6±9.3 mg/dl before treatment with the diet, and after a cholesterol-rich diet for 4 weeks, cholesterol levels increased to 185.4±21.4 (p<0.05). No differences among recovery in left ventricle developed pressure (LVDP) or in end-diastolic left ventricle pressure (EDLVP) were reported in normocholesterolemic animals. Nevertheless, the administration of rosuvastatin mitigated systolic and diastolic post-ischemic left ventricular dysfunction. Infarct size in G1 and G3 was 16.6±2.6 and 25.6±2.7, respectively (p < 0.05). Administration of rosuvastatin reduced the infarct size in G2 and G4 to 4.5±1.1 y 5.5±1.6 (p<0.05), respectively.

The administration of rosuvastatin since the beginning of reperfusion reduces the infarct size in normocholesterolemic and hypercholesterolemic rabbits, and improves ventricular function only in hypercholesterolemic animals.

Key words > Myocardial Infarction - Rosuvastatin - Pyrimidines - Hypercholesterolemia - Ventricular Function

BIBLIOGRAFÍA

1. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S) *Lancet* 1994;344:1383-9.
2. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002;360:7-22.
3. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group. *N Engl J Med* 1998;339:1349-57.
4. Mason JC. Statins and their role in vascular protection. *Clin Sci (Lond)* 2003;105:251-66.
5. Laufs U, La Fata V, Plutzky J, Liao JK. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation* 1998;97:1129-35.
6. Di Napoli P, Taccardi AA, Grilli A, De Lutiis MA, Barsotti A, Felaco M, et al. Chronic treatment with rosuvastatin modulates nitric oxide synthase expression and reduces ischemia-reperfusion injury in rat hearts. *Cardiovasc Res* 2005;66:462-71.
7. Ikeda Y, Young LH, Lefer AM. Rosuvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor, protects ischemic reperfused myocardium in normocholesterolemic rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003;41:649-56.
8. Jones SP, Trocha SD, Lefer DJ. Pretreatment with simvastatin attenuates myocardial dysfunction after ischemia and chronic reperfusion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:2059-64.
9. Tiefenbacher CP, Kapitza J, Dietz V, Lee CH, Niroomand F. Reduction of myocardial infarct size by fluvastatin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:H59-64.
10. Bell RM, Yellon DM. Atorvastatin, administered at the onset of reperfusion, and independent of lipid lowering, protects the myocardium by up-regulating a pro-survival pathway. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:508-15.
11. Bauersachs J, Galuppo P, Fraccarollo D, Christ M, Ertl G. Improvement of left ventricular remodeling and function by hydroxymethylglutaryl coenzyme a reductase inhibition with cerivastatin in rats with heart failure after myocardial infarction. *Circulation* 2001;104:982-5.
12. Tilton RG, Cole PA, Zions JD, Daugherty A, Larson KB, Sutera SP, et al. Increased ischemia-reperfusion injury to the heart associated with short-term, diet-induced hypercholesterolemia in rabbits. *Circ Res* 1987;60:551-9.
13. Golino P, Maroko PR, Carew TE. Efficacy of platelet depletion in counteracting the detrimental effect of acute hypercholesterolemia on infarct size and the no-reflow phenomenon in rabbits undergoing coronary artery occlusion-reperfusion. *Circulation* 1987;76:173-80.
14. Saini HK, Arneja AS, Dhalla NS. Role of cholesterol in cardiovascular dysfunction. *Can J Cardiol* 2004;20:333-46.
15. Donato M, D'Annunzio V, Berg G, Gonzalez G, Schreier L, Morales C, et al. Ischemic postconditioning reduces infarct size by activation of A1 receptors and K+(ATP) channels in both normal and hypercholesterolemic rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007;49:287-92.
16. Maron DJ, Fazio S, Linton MF. Current perspectives on statin. *Circulation* 2000;101:207-13.
17. Kureishi Y, Luo Z, Shiojima I, Bialik A, Fulton D, Lefer DJ, et al. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. *Nat Med* 2000;6:1004-10.
18. Fulton D, Gratton JP, McCabe TJ, Fontana J, Fujio Y, Walsh K, et al. Regulation of endothelium-derived nitric oxide production by the protein kinase Akt. *Nature* 1999;399:597-601.