

Diferencias genéticas en la disminución del colesterol por estatinas en pacientes chilenos con cardiopatía coronaria

Viviana Noriega², Cristian Pennanen², Marcelo Llancaqueo¹, Sergio Lavandero^{2,3}, Juan Carlos Prieto^{1,3}

¹Centro Cardiovascular, Hospital Clínico Universidad de Chile

²Centro FONDAP Estudios Moleculares de la Célula, Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas Universidad de Chile

³Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Financiamiento: Beca Sociedad Médica y FONDAP15010006

Resumen

Introducción: Las estatinas son fármacos de elección para el tratamiento de hipercolesterolemia. Sin embargo, dado que existe una considerable variabilidad interindividual en la reducción del colesterol, la evaluación farmacogenética en la respuesta a las estatinas ha cobrado especial relevancia. Los polimorfismos se definen como secuencias de DNA que se transmiten de generación en generación de forma simple con una frecuencia >1%.

Objetivo: Investigar el polimorfismo del tipo TTA en tandem (TTA)_n del gen de la HMG-CoA reductasa y su asociación con una diferente magnitud en la disminución de los niveles plasmáticos de colesterol LDL (LDLc) en pacientes tratados con estatinas.

Métodos: Pacientes mayores de 18 años, con cardiopatía coronaria (CC) estable y/o diabetes mellitus. Los pacientes se trataron por 8 semanas con atorvastatina 40 mg/día. Se determinaron los niveles basales y al final del periodo de tratamiento de colesterol total, LDLc, colesterol HDL (HDLc) y triglicéridos (TG). El DNA se purificó de leucocitos periféricos y un segmento de 174-193 pares de bases (pb) de una región del gen de la HMG-CoA reductasa se amplificó por PCR y se determinaron los tipos de variantes polimórficas (TTA)_n. Los pacientes se agruparon en tres categorías de acuerdo al tipo de variante polimórfica (TTA)_n: a) con dos alelos de 10 repeticiones (10/10), b) con dos alelos de más de 10 repeticiones (>10/>10) y c) con cada uno de los tipos de alelos antes descritos (10/>10).

Resultados: Después del tratamiento, el grupo >10/>10, experimentó una reducción del 43% y 32% para LDLc y colesterol total, respectivamente. En el grupo >10/10, la reducción fue de 46% para LDLc y 33% colesterol total y en el grupo 10/10, 50% para LDLc y 35% colesterol total. Reducción de los niveles de TG fue significativa en el grupo 10/10 y >10/>10. Sin embargo, los cambios en HDLc no fueron significativos.

Conclusiones: Estos datos preliminares muestran una tendencia a responder con menor reducción de los niveles de LDLc en los pacientes portadores del polimorfismo con los dos alelos con más de 10 repeticiones (>10/>10).

Palabras clave: HMG-CoA reductasa, polimorfismo, atorvastatina

Correspondencia: Dr. Juan Carlos Prieto
Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina,
Independencia 1027, Santiago. Teléfono: +562-9786044.
Correo Electrónico: jprieto@med.uchile.cl

Influence of HMG-CoA reductase gene polymorphism on atorvastatin effects in patients with coronary artery disease

Background: Statins have been clinically used for lowering total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol (LDLc). However the benefit of treatment varies between patients and it has been hypothesized that genetic differences may contribute to this variation. A gene polymorphism is defined as DNA sequence variation in a population with a frequency greater than 1 percent.

Objective: In this study we evaluate the impact of (TTA)_n HMG-CoA reductase (HMGCR) gene polymorphism on the LDLc lowering efficacy of atorvastatin in Chilean patients with coronary artery disease (CAD).

Methods: Male and female patients, age >18 years with angiographically documented CAD, received 40 mg of atorvastatin daily for 8 weeks. Venous blood samples were obtained at baseline and after 8 weeks for the total serum cholesterol, LDLc, high-density lipoprotein (HDL) cholesterol and serum triglycerides. DNA was obtained and purified from peripheral leukocytes. Genotyping was done by PCR. A 175-193 bp polymerase chain reaction product was generated using the primers. Three groups of patients were identified: a) those with 2 alleles of 10 repeats (10/10); b) those with 2 alleles with more than 10 repeats (>10/>10) and c) those containing both alleles described (<10/10).

Results: Atorvastatin treatment significantly decreased LDLc and total cholesterol on patients with alleles >10/>10, 43 and 32%; allele >10/10, 46 and 33% and allele 10/10, 50 and 33%, respectively. A significant reduction in triglycerides was also observed in 10/10 and >10/>10 groups. HDL levels did not change.

Conclusions: In a sample of Chilean patients with chronic stable CAD, preliminary results showed a difference in LDLc and total cholesterol reduction by atorvastatin in patients with alleles >10/>10 in the HMG-CoA reductase gene.

Keywords: HMG-CoA reductase, polymorphism, atorvastatin

Recibido el 8 de mayo de 2007, aceptado el 2 de julio de 2007

Rev Chil Cardiol 2007; 26: 135-143

Introducción

Las estatinas son inhibidores competitivos y reversibles de la hidroximetilglutaril coenzima-A reductasa (HMG-CoA), enzima limitante en la biosíntesis endógena de colesterol. En la actualidad son fármacos de elección en el tratamiento de la dislipidemia, logrando reducir considerablemente los niveles de los lípidos plasmáticos, especialmente el LDLc. Aunque el tratamiento con estatinas es beneficioso en los pacientes con alto riesgo que son portadores de CC¹, existen considerables variaciones inter-individuales en la respuesta clínica y en la reducción de los niveles plasmáticos de colesterol². Se estima que variaciones genéticas son responsables de entre 20 y 95% de la variabilidad en la respuesta a fármacos^{3,4}, pero sólo la apolipoproteína E ha sido reconocida como un determinante genético en la respuesta a la terapia con estatinas⁵.

La biosíntesis y metabolismo del colesterol es un

complejo proceso controlado por varias enzimas y receptores, siendo la HMG-CoA reductasa la enzima marcapaso de esta vía biosintética.

Un polimorfismo se define como una secuencia de DNA que se transmite de generación en generación de forma simple, la secuencia puede ser tan corta como un solo nucleótido; polimorfismo de nucleótido simple (SNP) o bien un fragmento de longitud considerable, como el polimorfismo de número variable de repeticiones tandem (VNTR).

Recientes estudios han descrito que un SNP A/T en el gen de la HMGCR muestra una menor reducción de los lípidos plasmáticos, después del tratamiento con pravastatina. Individuos heterocigotos tenían un 22% de menor reducción de los niveles de colesterol total y un 19% de menor reducción del LDLc. Estos datos se obtuvieron de 1.536 pacientes participantes del estudio

PRINCE, en el que la distribución étnica fue de 88,7% blancos, 6,7% negros, 2,9% hispanos, 1,2% asiáticos y 0,7% de otras etnias, en estos pacientes la prevalencia del polimorfismo A/T fue 6,7%⁶.

Existe otro polimorfismo en la enzima HMG-CoA reductasa, del tipo tandem, (TTA)_n, Plat y cols encontraron que el número de veces que se repite esta secuencia fluctúa entre 10 (55,2%) a 16 veces (3,0%). Esta frecuencia de distribución sugiere que 10 repeticiones pueden ser consideradas como el alelo silvestre o "wild-type", este estudio se realizó en 112 individuos no hipercolesterolémicos, que consumían en la dieta ésteres de estanol. Los pacientes "wild-type" alcanzaron una reducción de la absorción de colesterol, en el límite de la significación estadística, comparado con los pacientes homocigotos >10>10⁷. En otro estudio de polimorfismo de repeticiones (TTA)_n, realizado en niños, se encontró que aquellos con colesterol elevado en plasma tenían una diferencia significativa en la frecuencia del genotipo del alelo con más de 10 repeticiones versus niños con bajos niveles plasmáticos de colesterol⁸.

En base a estos antecedentes se eligió al polimorfismo (TTA)_n en el gen de la HMGR para un estudio farmacogenético que evaluó su asociación con una diferente magnitud en la disminución de los niveles plasmáticos de LDLc, en pacientes con CC tratados con estatinas.

Pacientes y Métodos

Pacientes

Se incluyeron pacientes mayores de 18 años, con CC demostrada estable, definida por uno o más de los siguientes criterios clínicos: pacientes con antecedentes de IAM, angina estable o inestable documentada con coronariografía, con antecedentes de angioplastia o cirugía de revascularización coronaria y/o pacientes con diabetes mellitus no insulino

dependiente. Se seleccionaron aquellos con LDLc en ayunas en un rango de 100 y 220 mg/dl, triglicéridos menor de 400 mg/dl y que no hayan sido tratados con estatinas a lo menos durante los dos meses previos al ingreso de este estudio.

Los criterios de exclusión fueron: mujeres embarazadas, en periodo de lactancia o en edad fértil sin método anticonceptivo, insuficiencia renal en diálisis, antecedentes de intolerancia o hipersensibilidad a las estatinas, hipotiroidismo no controlado (TSH 1.5 veces el LNS), enzimas hepáticas elevadas (GOT o GPT) 2 veces el LNS, niveles de creatina kinasa 3 veces LNS, TG 400 mg/dl; IAM, revascularización miocárdica, angioplastia o accidente vascular cerebral durante los 3 meses previos al ingreso en el estudio, tratamiento con fármacos de conocida interacción con estatinas, evidencia de enfermedades gastrointestinales que limiten la absorción de medicamentos y pacientes con limitaciones para comprender la naturaleza del estudio o que sean portadores de enfermedades que limiten su sobrevida.

Diseño del estudio

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Clínico de la Universidad de Chile. Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado antes de iniciar cualquier acción relacionada con el protocolo. El estudio fue prospectivo y abierto. A los pacientes que cumplían criterios de inclusión, se les indicó atorvastatina 40 mg/día por 8 semanas, siendo cada paciente su propio control. Se determinó el IMC (índice de masa corporal) y se entregó consejo dietético y una dieta estandarizada como base del tratamiento. Se realizaron 3 evaluaciones clínicas: visita 1 (semana -1) de screening, Visita 2 (semana 0) de inicio del tratamiento y visita 3 (semana 8) final del estudio (Figura 1). La atorvastatina utilizada provenía de sólo un laboratorio farmacéutico (Laboratorio Saval S.A), que cumplió con las normas GMP.

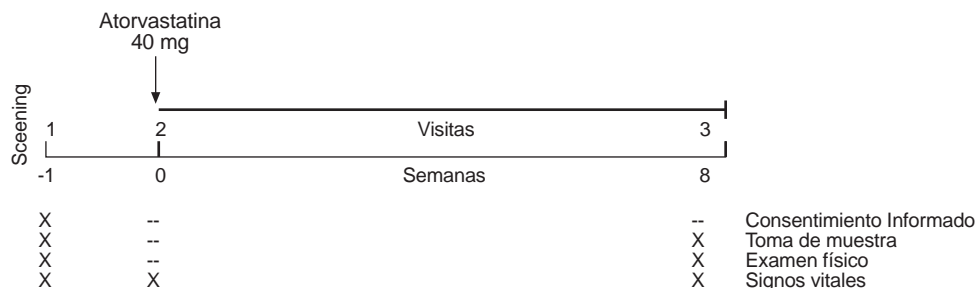


Figura 1. Diseño del estudio

Medición de los niveles plasmáticos de colesterol

En las visitas 1 y 3 se tomaron 10 ml de sangre venosa en tubos heparinizados. Se realizó un perfil lipídico que incluyó las determinaciones de los niveles plasmáticos de colesterol total, LDLc, HDLc y TG. Estas determinaciones se realizaron bajo los protocolos del laboratorio central del Hospital Clínico de la Universidad de Chile. Los valores de LDLc se calcularon de sangre periférica usando la fórmula de Friedewald.

Determinación del polimorfismo de la HMG-CoA reductasa.

Se tomaron 5 ml de sangre y se extrajo el DNA genómico. La determinación del polimorfismo de número variable de repeticiones en Tandem (VNTR) (TTA)_n en el gen de la HMGCR se determinó por reacción de polimerasa en cadena (PCR). Se utilizaron partidores específicos para la zona de interés, 5' a 3' R: CAGAGTAACACTCTGTCTCC y F: CATGTTCCATCCATGTCTGC. Condiciones utilizadas: 35 ciclos de denaturación a 94°C por 30 seg, temperatura de alineamiento 57°C por 30 seg, elongación a 72°C por 30 seg, seguido por 7 min a 72°C para la extensión final. Los productos de PCR de 175-193 bp de una región del DNA que contiene la repetición (TTA)_n en el gen de la HMGCR se fraccionaron por tamaño en un gel de poliacrilamida al 6% por electroforesis.

Criterios de evaluación

El criterio de eficacia del tratamiento fue la magnitud del cambio en los niveles plasmáticos de colesterol total y LDLc. Los pacientes se agruparon en tres categorías: a) con dos alelos de 10 repeticiones (10/10), b) con dos alelos de más de 10 repeticiones (>10/>10) y c) con cada uno de los tipos de alelos antes descritos (10/>10).

La seguridad se midió por la aparición de efectos adversos (EAs) espontáneos reportados por el paciente u observados por el investigador. El cumplimiento de tratamiento se determinó mediante el conteo de comprimidos retornados.

Tamaño de la muestra y análisis estadístico

La determinación del tamaño de la muestra consideró un número de individuos que permitiera asociar alelos con respuesta a terapias farmacológicas. Los pacientes se separaron en grupos de acuerdo a la

presencia o no del polimorfismo (TTA)_n, en el gen de la HMG-CoA reductasa. Para el cálculo de la muestra se asumió: a) la atorvastatina reduce a esas dosis los niveles de colesterol LDL en 30%, b) que la intensidad de la respuesta hipolipemiante (reducción de los niveles de cLDL) difiere en 20% entre grupos. Se necesitaban 12 pacientes por grupo, es decir i) con dos alelos de 10 repeticiones (10/10), ii) con dos alelos de más de 10 repeticiones (>10/>10) y iii) con cada uno de los tipos de alelos antes descritos (10/>10). Para encontrar diferencias significativas y como se desconocía la frecuencia alélica de este polimorfismo (TTA)_n en la población chilena, usamos como referencia el de una población europea, 20% en el caso de dos alelos con más de 10 repeticiones. Es por ello que el tamaño de la muestra total incluyó a 60 pacientes. Se utilizó un análisis de varianza, con un error α 0.05 y una potencia del 80%.

Resultados

Pacientes del estudio

Un total de 91 pacientes se seleccionaron para ingresar a la etapa de screening, en el Centro Cardiovascular del Hospital Clínico de la Universidad de Chile, de ellos 66 cumplieron con los criterios de inclusión y 25 fueron excluidos (Figura 2). Las principales causas de exclusión de pacientes fueron: niveles de LDLc menores a 100mg/dl, TG>400mg/dl e hipotiroidismo. Hasta el momento 41 pacientes completaron el protocolo y 5 fueron retirados, siendo las principales causas: eventos adversos 1 paciente (1.5%), perdidos al follow-up 3 pacientes (4.5%) y un paciente (1.5%), por aparición de cáncer pancreático. De los 41 pacientes que completaron el tratamiento con atorvastatina, 32 fueron hombres y 9 mujeres con una edad promedio de 66 y 67 años, respectivamente. Las características basales y clínicas de los pacientes del estudio se muestran en la Tabla 1. Los pacientes se clasificaron de acuerdo a la presencia del polimorfismo de la HMG-Co A reductasa. Los grupos >10/>10, >10/10 y 10/10, tuvieron una distribución homogénea: en edad, sobrepeso (IMC=27,9±4,4; 27,2±3,9 y 28,2±3,0), promedio de factores de riesgo (2,7±1,0; 2,7±0,8 y 3,5 ±0,9). Los pacientes recibían terapias farmacológicas relacionadas al tratamiento de la HTA y la CC.

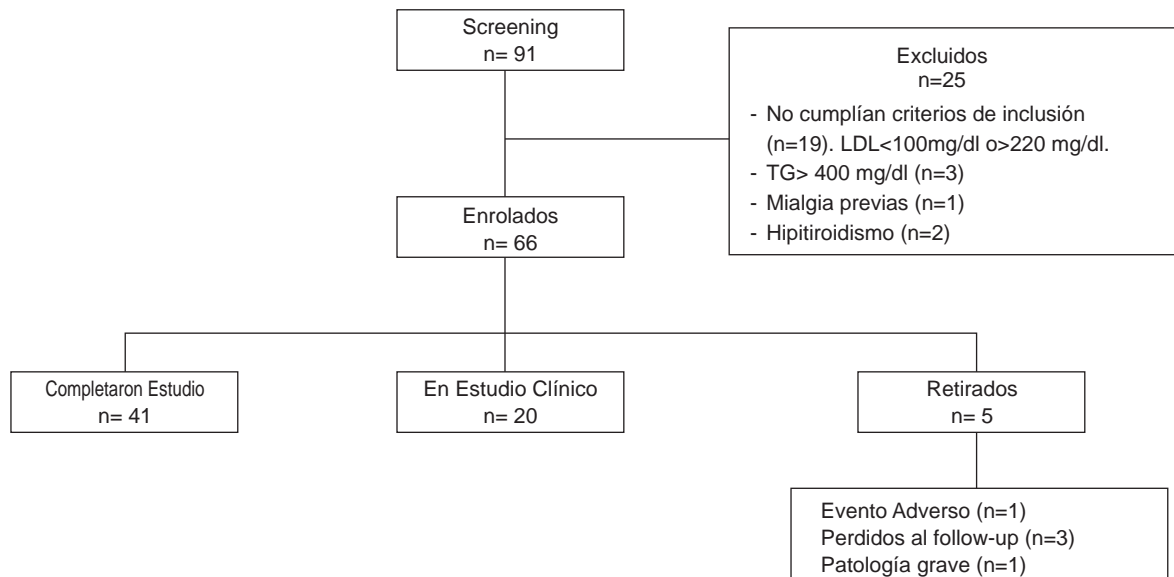


Figura 2. Diseño del estudio

Tabla 1. Características basales de los pacientes del estudio

Características	>10/>10 n= 17	>10/10 n= 6	10/10 n=18
Edad, (promedio SD)	65,3 ± 8,6	66,0 ± 1,3	67,4 ± 8,7
Sexo, n (%)			
Hombres	14 (82,4)	4 (66,7)	14 (77,8)
Peso, (Kg SD)	73,9 ± 14,1	70,8 ± 18,7	74,7 ± 12,6
IMC (Kg/mt ² SD)	27,9 ± 4,4	27,2 ± 3,9	28,2 ± 3,0
Presión arterial sistólica (mmHg SD)	161,4 ± 27,1	143,8 ± 14,1	154,0 ± 21,9
Presión arterial diastólica (mmHg SD)	91,4 ± 15,1	82,0 ± 9,5	88,6 ± 11,4
Factores de riesgo CV, n° (%)			
HTA	15 (88,2)	6 (100)	18 (100)
Obesidad	4 (23,5)	1 (16,6)	5 (27,7)
DM tipo II	2 (11,7)	0 (0)	9 (50)
Antecedentes familiares	6 (35,3)	2 (33,3)	12 (66,6)
Fumador actual	3 (17,6)	1 (16,6)	1 (5,5)
Ex-fumador	12 (70,6)	5 (83,3)	10 (55,5)
Número de FR CV, promedio(SD)	2,7 ± 1,0	2,7 ± 0,8	3,5 ± 09
Historia cardiovascular, n (%)			
IAM	8 (47,1)	4 (66,6)	8 (44,4)
Angina Estable	4 (23,4)	1 (16,6)	4 (22,2)
Angina inestable	5 (29,4)	2 (33,3)	10 (55,5)
Accidente cerebrovascular	0 (0)	2 (33,3)	2 (11,1)
Enfermedad aterosclerótica carotídea	1 (5,9)	1 (16,6)	4 (22,2)
Revascularización coronaria:			
Angioplastia	7 (41,2)	3 (50)	5 (27,7)
By pass coronario	15 (88,2)	3 (50)	16 (88,8)
Medicación concomitante, n° (%)			
b bloqueadores	10 (58,8)	5 (83,3)	9 (50)
IECA	11 (64,7)	4 (66,6)	8 (44,4)
ARA II	1 (5,9)	1 (16,6)	3 (16,6)
Diuréticos	3 (17,6)	2 (33,3)	8 (44,4)
Antagonistas de Calcio	2 (11,7)	2 (33,3)	3 (16,6)
Aspirina	14 (82,4)	5 (83,3)	16 (88,8)

Eficacia

Durante el periodo de tratamiento, los pacientes en el grupo >10/>10; redujeron los niveles de colesterol total de un promedio de 212 mg/dl a 144 mg/dl (reducción de 32%) y cLDL de 137 mg/dl a 78 mg/dl (reducción del 43%). En el grupo >10/10 los niveles de colesterol total descendieron de 226 mg/dl a 151 mg/dl (reducción de 33%) y LDLc de 146 mg/dl a 79 mg/dl (reducción del 46%). En el grupo 10/10 los niveles de colesterol total bajaron de 210 mg/dl a 137 mg/dl (reducción de 35%) y LDLc de 127 mg/dl a 63 mg/dl (reducción de 50%).

La tabla 2 resume los valores de los lípidos basales y después de 8 semanas de tratamiento, de acuerdo al genotipo de los pacientes. En los pacientes que participaron en este estudio se determinó la prevalencia del polimorfismo que fue de 41% para el grupo >10/>10, 15% para >10/10 y 44% para 10/10, a diferencia de una población europea donde se encontró 22% para el grupo >10/>10, 47% para el grupo >10/10 y 31% para el grupo 10/10.

Tabla 2. Niveles basales y después de 8 semanas de tratamiento, de colesterol total (mg/dl) y cLDL (mg/dl) de acuerdo al polimorfismo (TTA)n presente en el gen de la HMG-CoA reductasa.

	>10/>10 n = 17			>10/10 n = 6			10/10 n = 18		
	Basal	Post tto	(•)	Basal	Post tto	(•)	Basal	Post tto	(•)
Colesterol total mg/dl, promedio, SD	212 ± 34	144±34	32†	226±27	151±21	33†	210±40	137±31	35†
Colesterol LDL mg/dl, promedio, SD	137±26	78±22	43†	146±29	79±18	46†	127±33	63±15	50†
Colesterol HDL, mg/dl, promedio, SD	40±9	40±9	0	46±18	41±11	9	43±9	41±11	3.5
Triglicéridos, mg/dl, promedio, SD	164±70	124±62	25#	176±81	134±117	24	166±87	114±66	31#

(•) % de reducción de los niveles plasmáticos

† p< 0.0001

#p<0.005

Tolerabilidad

Durante las 8 semanas del estudio, se observaron escasos efectos adversos (EAs). Un paciente se retiró del estudio por glositis y un paciente fue diagnosticado con cáncer pancreático en la semana 2 de tratamiento, y ya que esta condición estaba definida como determinante de una menor sobrevida, el paciente se retiró inmediatamente del

protocolo, sin considerársele relacionado con el fármaco en estudio. No se observaron efectos adversos relacionados con el fármaco del estudio, tales como molestias gastrointestinales, dolores musculares o efectos hepáticos. Existieron leves aumentos de CK, GOT y GPT, que se mantuvieron dentro de los rangos normales de laboratorio y no tuvieron significación clínica (Figura 3).

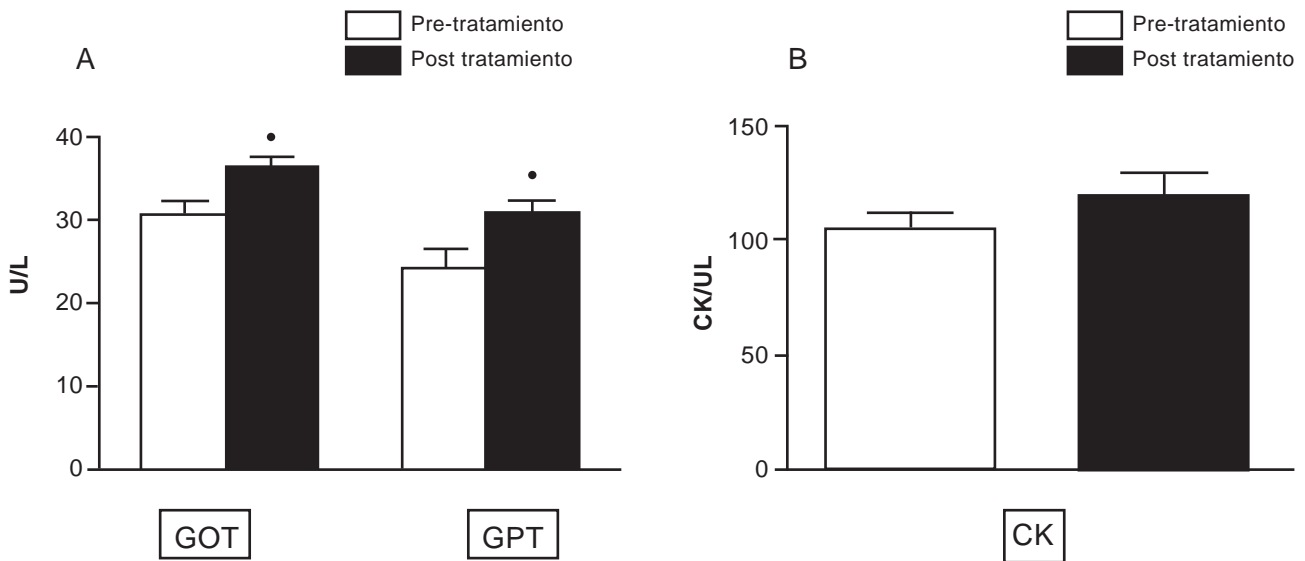


Figura 3. Niveles plasmáticos de transaminasas hepáticas GOT y GPT y creatinina quinasa basal y después del tratamiento por 8 semanas con atorvastatina 40 mg/día.

n= 41

• P<0.005

Discusión

Evidencias epidemiológicas han establecido una fuerte relación entre los niveles elevados de lipoproteínas aterogénicas, particularmente LDLc y el riesgo de muerte o complicaciones de origen cardiovascular (CV). Estudios clínicos controlados con estatinas han demostrado que esta terapia farmacológica, junto con reducir los niveles de LDLc, también disminuye el riesgo CV (9-12). Los pacientes fueron instruidos en la visita 2 de la importancia del cumplimiento de la terapia, para lograr la estabilización de placa aterosclerótica y la reducción de los niveles plasmáticos de LDLc a <100 mg/dL, meta actual en el manejo de los niveles de colesterol en este tipo de pacientes, destinado a reducir su alto riesgo CV. La prevalencia del polimorfismo (TTA)n en el gen de la HMG-CoA reductasa difiere del de una población europea. En el presente estudio se analizó la posible interacción entre el polimorfismo (TTA)n en el gen de la HMG-CoA reductasa y su rol en la respuesta diferencial de los niveles plasmáticos de LDLc.

Si bien no existen diferencias significativas en la magnitud de la reducción de los niveles plasmáticos de LDLc relacionados a la presencia del polimorfismo (TTA)n, el grupo con dos alelos de más de 10 repeticiones >10/>10, tiene el potencial de influenciar el efecto farmacológico de el tratamiento con estatinas, ya que se observa una menor respuesta al medicamento (Figuras 4 y 5).

Conocer la respuesta farmacológica según el tipo de polimorfismo de una enzima involucrada en la biosíntesis de colesterol, está de acuerdo con las tendencias actuales de la búsqueda del tratamiento y dosificación personalizada de las terapias farmacológicas. Ya que las estatinas no sólo son la terapia actual de elección para las dislipidemias, sino que además están indicadas en la protección cardiovascular global gracias a sus efectos pleiotrópicos, es relevante utilizar las dosis necesarias del fármaco sin aumentar el riesgo por efectos adversos.

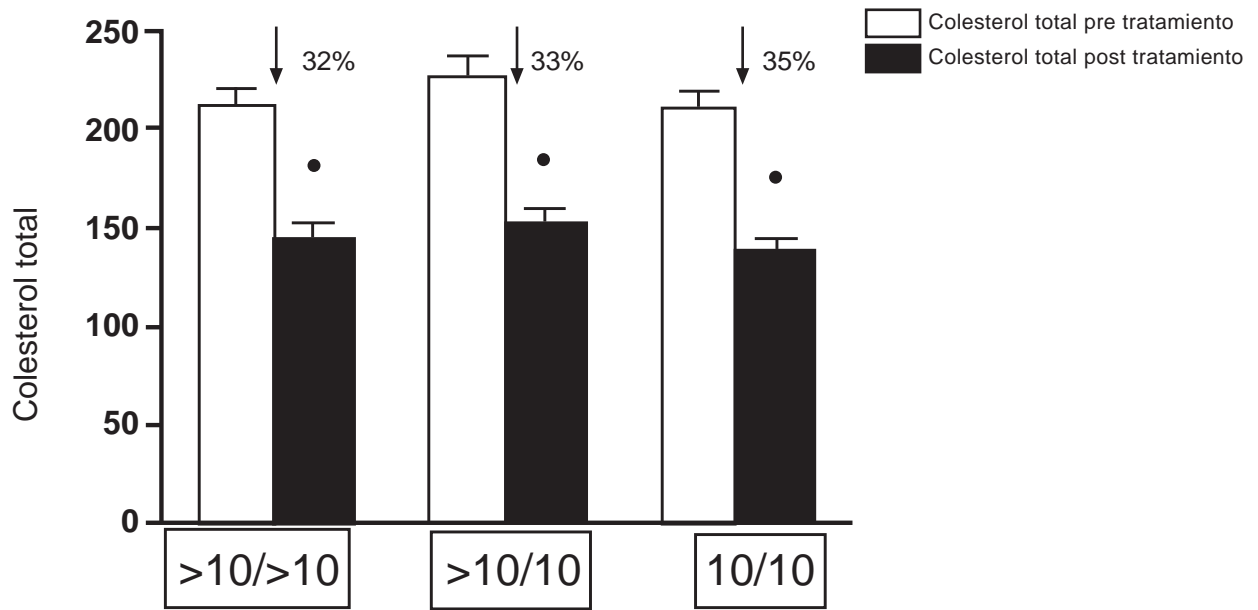


Figura 4. Niveles de colesterol total basal y después del tratamiento por 8 semanas con atorvastatina 40 mg/día. Asociación entre la presencia del polimorfismo y la reducción de los niveles plasmáticos de colesterol total.

n= 41

• P<0.005

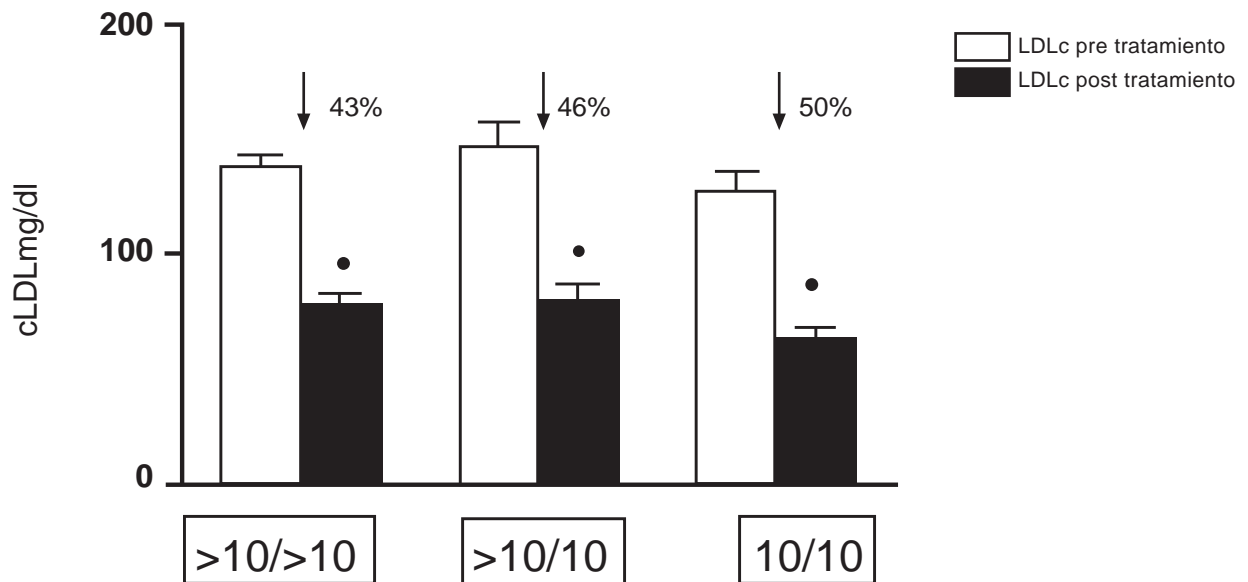


Figura 5. Niveles de LDLc basal y después del tratamiento por 8 semanas con atorvastatina 40 mg/día. Asociación entre la presencia del polimorfismo y la reducción de los niveles plasmáticos de LDLc.

n= 41

• P<0.005

Referencias

1. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High blood Cholesterol in adult. Executive summary of the Third Report of the National cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adult(Adult treatment panel III). JAMA 2001; 285: 2486-97.
2. KAJINAMI K, TAKEKOSHI N, BROUSSEAU M, SCHAEFER E. Pharmacogenetics of HMG-CoA reductase inhibitors: exploring the potential for genotype-based individualization of coronary heart disease management. Atherosclerosis 2004; 177: 219-234.
3. WEINSHILBOUM R. Inherent and drug response. N Engl J Med 2003; 348: 529-37
4. EVANS WE, MCLEOD HL. Pharmacogenomics drug disposition, drug targets and side effects. N Engl J Med 2003; 348: 538-49.
5. PEDRO-BOTET J, SCHAEFER EJ, BAKKER-ARKEMA RG, BLACK DM, STEIN EM, CORELLA D, et al. Apolipoprotein E genotype affects plasma lipid response to atorvastatin in gender specific manner. Atherosclerosis 2001; 158:183-93.
6. CHASMAN D, POSADA D, SUBRAHMANYAN L, COOKN, STANTON V, RIDKER P. Pharmacogenetic study of statin therapy and cholesterol reduction. JAMA 2004; 291: 2821-2827.
7. PLAT J, MENSINK RP. Relationship of genetic variation in genes encoding apolipoprotein A-IV, scavenger receptor BI, HMG-CoA reductase, CETP and apolipoprotein E with cholesterol metabolism and the response to plant stanol ester consumption. Eu J Clin Invest 2002; 32: 242-250.
8. HUBACEK JA, PISTULKOVA H, VALENTA Z, POLEDNE R. (TTA)_n repeat polymorphism in the HMG-CoA reductase gene and cholesterolemia. Vasa. 1999; 28: 169-71.
9. SACKS FM, PFEFFIER MA, MOYE LA,ROULEAU JL, RUTHERFORD JD, COLE TG, et al. The effects of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. N Engl J Med 1996; 335:1001-9.
10. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study(4S). Lancet 1994; 344: 1383-9.
11. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20.536 high-risk individuals: a randomized placebo-controlled rial. Lancet 2002; 336:7-22.
12. SEVER PS, DAHLOF B, POULTER NR, WEDELH, BEEVERD G, CAULFIELD M, et al. Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcome Trial-Lipid Lowering Arm(ASCOT-LLA): a multicentric randomized controlled trial. Lancet 2003; 361: 1149-58.