

# Endotélio, Lípidos e Aterosclerose

Paulo Afonso Ribeiro Jorge

Campinas, SP

Há uma certa unanimidade na literatura de que o estágio mais precoce da aterogênese é caracterizado pelo acúmulo focal de macrófagos, envolvendo resíduos de LDL e colesterol, no espaço subendotelial do vaso<sup>1</sup>. Em outras palavras, as chamadas células espumosas, presentes na região da íntima arterial, representariam a alteração morfológica mais precoce e característica da aterosclerose. Certamente que a compreensão dos mecanismos envolvidos na formação das células espumosas passa a ter a maior importância, pela perspectiva de se poder interferir na formação e na evolução da placa de aterosclerose. De um modo geral, a explicação mais freqüentemente expressa nos textos que abordam o assunto, é que as LDL plasmáticas, chegando à região da íntima arterial, se oxidariam em consequência de radicais livres gerados neste local. As LDL oxidadas, através de substâncias quimioatratantes, induziriam a migração de monócitos e conseqüente fagocitose e formação das células espumosas<sup>2</sup>. Esta explicação, inicialmente simplista, não discute como as LDL plasmáticas atingem a região íntima do vaso. Este é um ponto ainda não bem esclarecido, mas cuja discussão tem a maior importância, para melhor se entender os mecanismos envolvidos na aterogênese.

## Endotélio e aterogênese

Nós estudamos, em animais de experimentação, a expressão morfológica da aorta de coelhos submetidos a uma dieta rica em colesterol, através da microscopia eletrônica. Paralelamente, avaliamos a função endotelial de segmentos vasculares, próximos àqueles analisados pela microscopia eletrônica, através de curvas de concentração-efeito com a acetilcolina e o nitroprussiato. A figura 1 mostra evidente disfunção endotelial sem qualquer alteração morfológica do endotélio ou da íntima arterial. Esta constatação sugere fortemente que a alteração mais precoce na aterogênese é a disfunção endotelial e traz à discussão, quais os mecanismos envolvidos no comprometimento funcional da célula endotelial na hipercolesterolemia, e as repercussões clínicas como ocorrência de eventos e mortalidade por doença coronária.

## Disfunção endotelial na hipercolesterolemia - formação das células espumosas

Existem fortes evidências de que as LDL plasmáticas, na sua relação normal com a parede arterial, adentram às células endoteliais através de mecanismos de endocitose. Simionescu e Simionescu<sup>3</sup> demonstraram, marcando partículas de LDL com ouro radioativo, carbono-<sup>14</sup>C e <sup>125</sup>Iβ-VLDL, a formação de invaginações na membrana da célula endotelial chamadas de *coated pits* e onde se localizariam

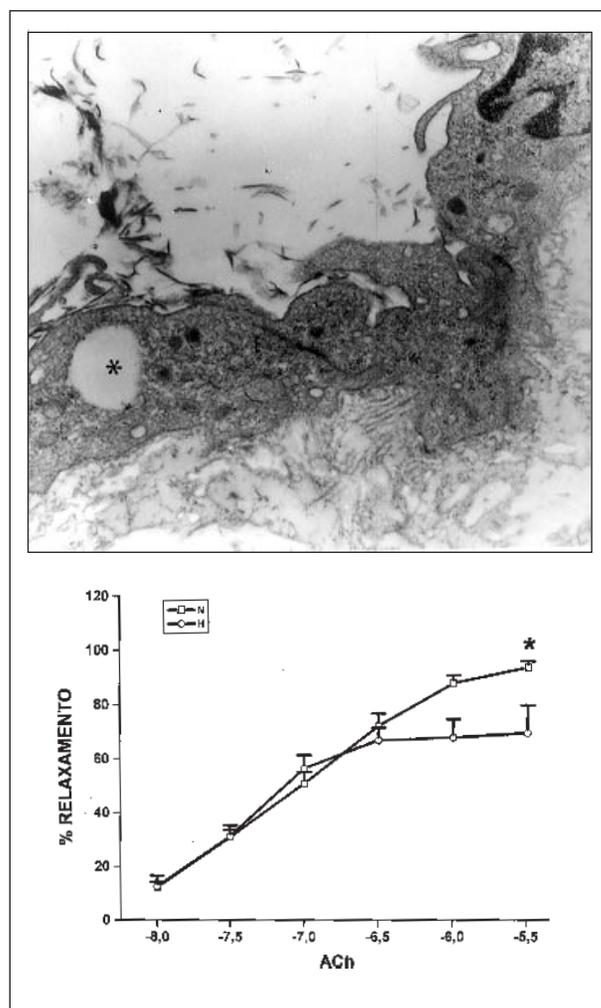


Fig. 1 - Fotomicrografia eletrônica (x3650) da parede da aorta de coelhos hipercolesterolêmicos. A) morfologia da célula endotelial preservada; B) curva de concentração-efeito com a acetilcolina, mostrando comprometimento do relaxamento dependente do endotélio, em anéis da aorta dos mesmos animais. \*  $p < 0,05$ ; N- normal; H- hipercolesterolemia.

Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP - Campinas

Correspondência: Paulo A. Ribeiro Jorge - Rua Guilherme da Silva, 397 - 13025-070 - Campinas, SP

Recebido para publicação em 27/10/96

Aceito em 19/11/96

os receptores específicos da apoB100. Estas invaginações transformam-se em vesículas de endocitose, carregando as partículas de LDL para o interior da célula endotelial. Dentro da célula, as partículas de LDL seriam englobadas em lisossomas e hidrolizadas em fosfolípidos, triglicérides, proteínas, colesterol etc, e os receptores específicos reciclados até a superfície da membrana celular. O colesterol livre seria utilizado na formação e recomposição da membrana celular ou armazenado sob a forma de ésteres de colesterol. Cerca de 10% das partículas de LDL atingiriam a região da íntima do vaso.

Na presença de hipercolesterolemia e conseqüente aumento das LDL, carreadoras do colesterol plasmático, aumentaria em 1ª instância o processo normal de endocitose das LDL através de receptores específicos e, em 2ª instância, ocorreria endocitose através de receptores inespecíficos. Ambas as situações levariam ao aumento da concentração de LDL nativas, no interior da célula endotelial. O aumento da concentração de LDL nativa no interior da célula endotelial induziria a maior consumo de NO e mais acentuada produção de radicais livres. O aumento dos radicais livres levaria a peroxidação dos ácidos graxos das partículas de LDL e, também, a oxidação das proteínas apoB. As LDL oxidadas, provavelmente através da transformação da lecitina em lisolecitina, provocariam a disrupção da Gi proteína, receptor de membrana por onde atuam inúmeros agonistas estimuladores da via de produção do óxido nítrico, levando ao comprometimento inicial da função da célula endotelial<sup>4</sup>. Posteriormente, outros receptores de membrana do tipo G proteína seriam comprometidos, impedindo a resposta celular à ação de outros agentes agonistas, como, por exemplo, os que induzem a produção de PGI<sub>2</sub>. Como conseqüência, ficam atenuadas as respostas que produzem vasodilatação endotélio-dependente, facilitando a ocorrência de espasmos vasculares localizados. De outro lado, ocorre a adesão e agregação plaquetária, com potencial formação de trombose. A disfunção endotelial apresenta graus variáveis de intensidade de comprometimento e mostra-se reversível, quando se reduz a hipercolesterolemia. A célula endotelial disfuncional, permitiria maior efluxo de LDL nativa e também de LDL oxidada para a re-

gião da íntima vascular, incrementando o processo de transcitose. Na íntima as LDL nativas se oxidariam, aumentando o contingente das LDL oxidadas, que induziriam a migração de monócitos e dariam início à formação das células espumosas. Por este conceito, a chegada das partículas de LDL à região intimal ocorreria após comprometimento funcional da célula endotelial. Esta conceituação, que imprime uma relação de causa e efeito entre a disfunção endotelial e a formação de células espumosas, faz sentido quando se analisa a expressão morfológica dos vasos, em coelhos hipercolesterolêmicos, em estágio um pouco mais avançado que o mostrado na figura 1. Na figura 2 observa-se a presença de vesículas contendo material lipídico (lipossomas extracelulares) na região da íntima do vaso. A seta aponta para uma vesícula de pinocitose adentrando para o espaço intimal. Verifica-se que nesta etapa de evolução não se observam monócitos na região da íntima sugerindo fortemente que a chegada dos lipossomas extracelulares precede e, posteriormente, estimula a chegada de monócitos os quais, fagocitando o conteúdo dos lipossomas, dariam origem às células espumosas. É lícito concluir, pelas considerações mencionadas, que a disfunção endotelial na hipercolesterolemia seria provocada por dois mecanismos principais: 1) a elevação das partículas de LDL no plasma e 2) peroxidação dos ácidos graxos dos triglicérides e fosfolípidos das LDL, no interior da célula endotelial.

### Disfunção endotelial, eventos clínicos, estabilidade e regressão da placa

Estudos mais recentes têm demonstrado que a maioria dos eventos coronários agudos ocorrem em conseqüência de espasmo e trombose sobre placas de aterosclerose rasas<sup>5,6</sup>. A coronariografia pós-trombólise revela que a lesão residual não ultrapassa 50% do lume arterial<sup>7</sup>. De outro lado, as placas propensas à rotura seriam aquelas com elevada concentração de células espumosas, também chamadas placas moles<sup>7</sup>. As placas já organizadas teriam um contorno de material fibroso e, por este motivo, estariam menos propensas à rotura. A explicação correntemente aceita para o entendimento dos eventos agudos é que ocorreriam fissuras na superfície que recobre a placa, desencadeando a adesão e agregação plaquetárias, com formação do trombo. Admite-se que a tensão provocada pelo conteúdo de células espumosas na íntima, acrescida de eventual hemorragia intimal, ação de enzimas proteolíticas, espasmo local e o estresse do fluxo sanguíneo sobre a placa, induziriam a fissuras de intensidade variável, expondo o subendotélio vascular<sup>7</sup>. A questão que se coloca, contudo, é se apenas a disfunção do endotélio que recobre a placa, sem fissuras, seria suficiente para desencadear o espasmo e o fenômeno trombótico.

Estudos clínicos bem conduzidos revelam evidente diminuição do número de eventos coronários, com a terapêutica redutora do colesterol plasmático<sup>8</sup>. De outro lado, quando se analisam os mecanismos envolvidos na redução de eventos coronários após tratamento com drogas hipoco-

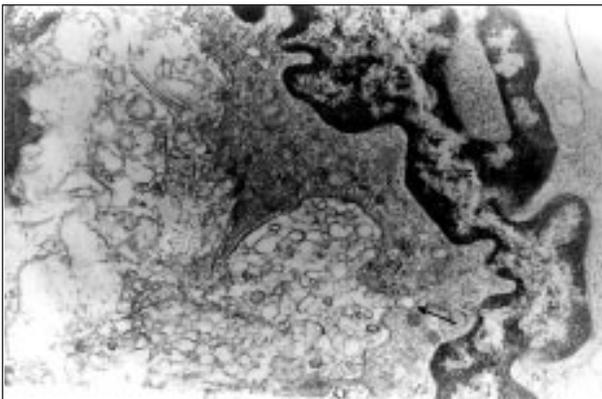


Fig. 2 - Fotomicrografia eletrônica (x14100) da aorta de coelhos hipercolesterolêmicos abrindo-se para a região íntima. Não se observam macrófagos.

lesterolêmicas, verifica-se que o percentual de redução não guarda relação com a diminuição do diâmetro da luz do vaso, ao nível da placa<sup>7</sup>. Outra vez, a explicação mais plausível que se apresenta para se entender a redução de eventos clínicos após terapêutica redutora do colesterol plasmático é a reversão da disfunção endotelial ou estabilidade da placa.

O conceito de estabilidade da placa não está bem definido na literatura<sup>9</sup>. Embora o termo traduza uma condição da placa em que não há propensão à rotura, não se compreende claramente quais os mecanismos envolvidos nesta providência. Aparentemente, a placa mole se instabiliza em conseqüência do aumento da tensão na região intimal provocada pelo aumento progressivo do volume de células espumosas, acrescido pelo espasmo local. A produção de enzimas líticas facilitaria a fissura ou rotura do endotélio e da camada de fibras que como uma capa envolve o ateroma. Esta concepção de instabilidade supõe uma prévia disfunção endotelial, sem o que não ocorreria adesão plaquetária e produção de tromboxane A2, com subsequente espasmo vascular. De outro lado, a estabilização e regressão da placa pressupõe diminuição do conteúdo de células espumosas e controle dos fatores vasoespásticos locais. Esta questão coloca em discussão como ocorre a diminuição do núcleo de células espumosas durante o tratamento com redução do colesterol plasmático. Uma possibilidade é a de que a retirada do colesterol da região intimal faça-se por transcitose invertida através da célula endotelial e captação pelas partículas de HDL. Trabalhos bem documentados mostram reversão da disfunção endotelial na hipercolesterolemia após elevação da concentração de HDL plasmática<sup>10</sup>. De acordo com este raciocínio, a estabilização da placa depende da preservação morfo-funcional do endotélio. A figura 3 mostra uma placa de aterosclerose, com estiramento e deformação da camada de células endoteliais e potencialmente sujeita a fissura. Por este exemplo é possível entender que a redução das LDL plasmáticas induziria inicialmente à reversão da disfunção endotelial e, posteriormente, à mobilização do núcleo de células espumosas com estabilização da placa. Na figura 4, verifica-se ampla rotura do

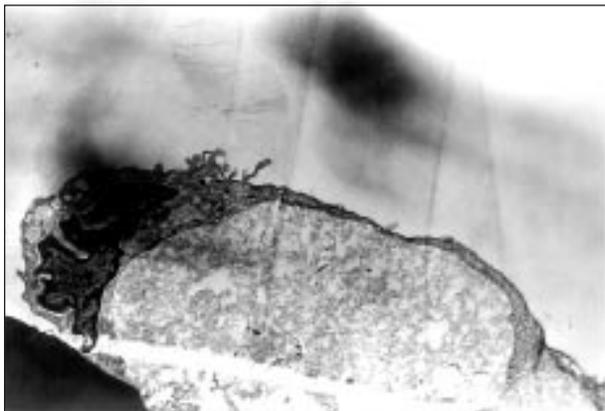


Fig. 3 - Fotomicrografia eletrônica (x3650) da aorta de coelhos hipercolesterolêmicos. Observam-se lipossomos extracelulares abaulando a superfície endotelial.

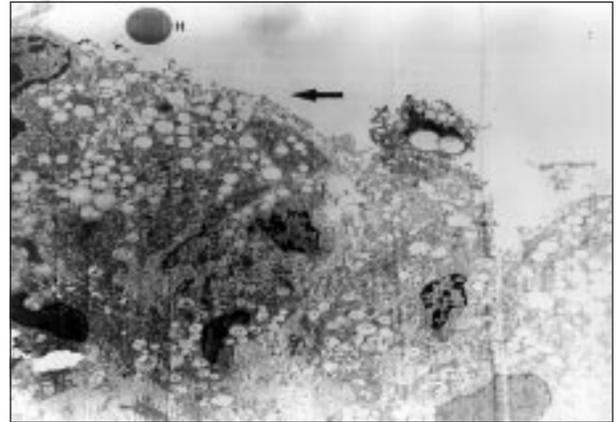


Fig. 4 - Fotomicrografia eletrônica (x3850) da aorta de coelhos hipercolesterolêmicos, mostrando a presença de macrófagos na íntima vascular (células espumosas) e ausência do endotélio.

endotélio. Neste exemplo é difícil entender como o tratamento com drogas redutoras do colesterol poderia estabilizar a lesão, pois não haverá o endotélio funcionante para permitir a retirada do núcleo de células espumosas e gerar substâncias como o NO e PGI2, necessárias à regulação da vasomotricidade e inibidoras da trombose. Estas considerações sugerem fortemente que a preservação da função endotelial é precursora da estabilidade da placa. Nestas condições, as drogas redutoras do colesterol não seriam as únicas envolvidas na terapêutica da aterosclerose, abrindo um amplo campo de estudo para as antioxidantes e outras que preservariam a função do endotélio. O ponto alvo seria a preservação ou proteção endotelial.

## Reversão da disfunção endotelial

Levando em conta as considerações acima, é lícito pensar que a reversão da célula endotelial, parcial ou total, seria a providência mais importante para estabilizar a placa mole de aterosclerose, restaurar a produção de NO e PGI2 e prevenir o vasoespasmo e a trombose, com repercussão sobre a ocorrência dos eventos clínicos.

**Drogas redutoras do colesterol plasmático** - A redução do colesterol plasmático e das LDL através da dieta ou de drogas hipocolesterolêmicas limitaria e, por hipótese, reverteria o mecanismo de endocitose ao nível da célula endotelial, preservando a função endotelial e propiciando a remoção do acúmulo das células espumosas. Diferentes estudos clínicos têm demonstrado significativa redução de eventos coronários e morte por doença coronária, com a administração de medicamentos redutores do colesterol plasmático<sup>8</sup>.

Nós estudamos a influência da pravastatina e da simvastatina sobre a reversão da disfunção endotelial em coelhos hipercolesterolêmicos<sup>11</sup>. Verificamos que a pravastatina com 15 dias de administração foi capaz de reverter parcialmente a disfunção endotelial (fig. 5), destacando-se neste experimento, que ocorreu reversão da disfunção

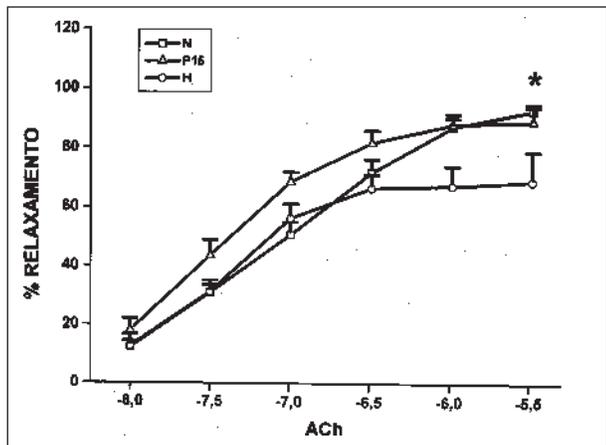


Fig. 5 - Curvas de concentração-efeito com acetilcolina, em coelhos hipercolesterolêmicos (H) tratados com pravastatina por 15 dias (P15). Observa-se reversão da disfunção endotelial, embora o nível do colesterol plasmático tenha se mantido parcialmente elevado. \*  $p < 0,05$ ; N- normal.

endotelial e da contagem do número de células espumosas, mesmo na presença de níveis, ainda razoavelmente elevados, do colesterol plasmático. Esta diminuição do número de células espumosas e a reversão da função endotelial é que nos parece ser o mecanismo primordial na estabilidade da placa mole.

### Velocidade de reversão da disfunção endotelial

Parece lógico admitir que a reversão da disfunção endotelial seria benéfica nas síndromes coronárias do tipo angina instável ou pós-infarto. Nestas condições, seria oportuno considerar a velocidade em que se pode reverter a disfunção endotelial na hipercolesterolemia.

Trabalhos de Tomita e col<sup>12</sup> e Simionescu e Simionescu<sup>3</sup> revelaram que as partículas de LDL se movimentam de forma dinâmica em relação ao endotélio. Colocando-se tiras de vasos na presença de LDL nativas e oxidadas, tem-se verificado que o comprometimento da função endotelial ocorre, quase que subitamente, e reverte com a lavagem do líquido de perfusão.

Com esta idéia, estudamos o efeito da pravastatina e da simvastatina em coelhos alimentados com dieta enriquecida com colesterol, por oito semanas, administrando as drogas nos últimos 2, 4 e 6 dias do experimento<sup>13</sup>. Verificamos que a pravastatina foi capaz de melhorar a função endotelial, a partir do 4º dia de administração da droga. Esta proteção endotelial foi acompanhada de redução do MDA (malondialdeído) e do colesterol da parede do vaso, sem significativa influência sobre o colesterol plasmático nesse período do experimento (fig. 6-A).

**Substâncias antioxidantes: Probuco** - O trabalho inicial de Kita e col<sup>14</sup> demonstrou o efeito do probucol, antioxidante sintético, na redução da % da área de aterosclerose da aorta de coelhos Watanabe (WHHL). No trabalho de

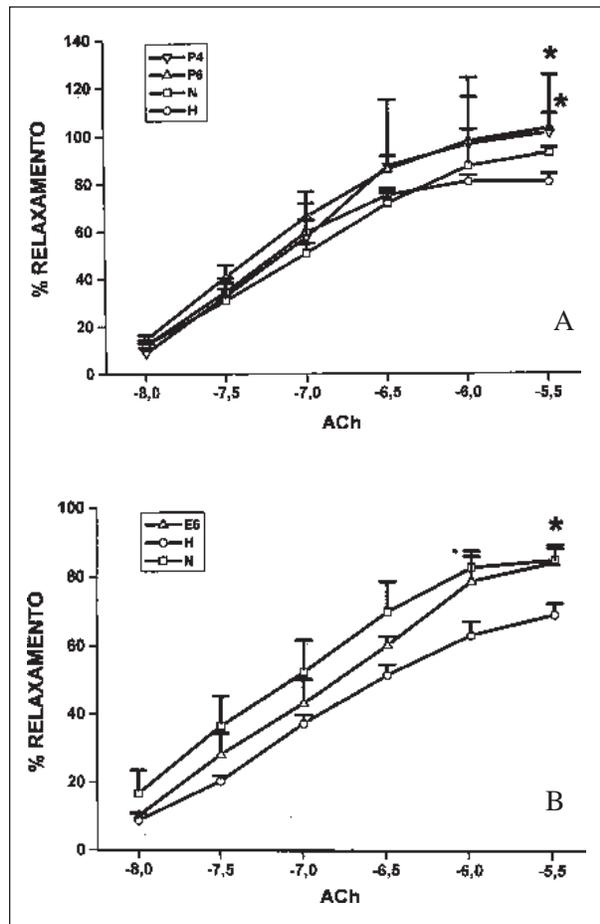


Fig. 6 - Curvas de concentração-efeito com a acetilcolina, em coelhos hipercolesterolêmicos: A) tratados com pravastatina nos últimos 2, 4 e 6 dias do experimento (P4,P6), ocorrendo reversão da disfunção endotelial no 4º dia; B) tratados com vitamina E nos últimos 2, 4 e 6 dias do experimento (E6); ocorrendo reversão da disfunção endotelial no 6º dia do experimento. \*  $p < 0,05$ ; N- normal.

Carew e col<sup>15</sup> comparou-se o efeito do probucol com a lovastatina também em coelhos WHHL. O probucol foi mais efetivo em reduzir a porcentagem da área de placas da aorta, sem interferir no nível do colesterol plasmático. Esta droga aumentou a resistência da LDL à oxidação *in vitro*. Por este experimento, o probucol, sem interferir na concentração do colesterol plasmático, reduziu a área de aterosclerose, provavelmente prevenindo a peroxidação das LDL ao nível da célula endotelial e na íntima do vaso. Alguns estudos, contudo, mostraram que o probucol não interferiu na extensão da proliferação intimal e no conteúdo de colesterol da parede arterial<sup>16</sup>.

**Vitamina E** - Estudamos o efeito da vitamina E, antioxidante endógeno, sobre o fluxo coronário-dependente do endotélio, em cães hipercolesterolêmicos<sup>17</sup>. Verificamos que a administração de 400UI dia de vitamina E durante 15 dias, aumentou o fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, enquanto reduziu o teor do colesterol e MDA da parede vascular, sem alteração significativa do colesterol plasmático (fig. 7). Em outro experimento, analisamos o efeito da vitamina E em coelhos hipercoles-

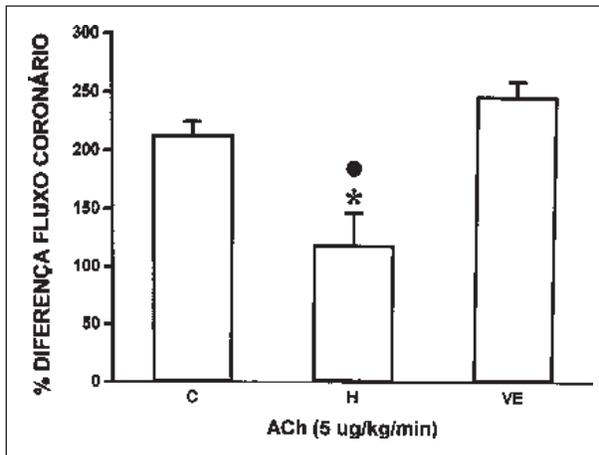


Fig. 7 - Reversão do fluxo coronário-dependente do endotélio (% da diferença do fluxo) em vasos de resistência coronária, após administração de vitamina E. \* $p < 0,05$ .

terolêmicos, administrando a dose de 50UI/dia, nos últimos 2, 4 e 6 dias do experimento. Estudamos o nível do colesterol plasmático, teor do MDA na parede do vaso e nas LDL, concentração do colesterol tecidual e nas LDL, em coelhos hipercolesterolêmicos. Verificamos que a vitamina E, na dose de 50UI/100g de ração e após seis dias de administração, foi suficiente para melhorar a função endotelial, reduzir a peroxidação das LDL e da parede arterial e o teor do colesterol tecidual e das LDL, sem influir no colesterol plasmático (fig. 6-B). A influência da vitamina E sobre a reversão da disfunção endotelial já foi observada por outros pesquisadores<sup>18,19</sup>. A melhora da função endotelial tem sido relacionada a redução da peroxidação lipídica dos ácidos graxos das LDL e da própria membrana celular. Entretanto, Keaney e col<sup>19</sup> verificaram que altas doses de vitamina E (1000UI/100g de ração) comprometem a função endotelial, enquanto baixas doses (100UI/100g de ração) melhoram a função do endotélio. Neste caso parece que elevadas doses de vitamina E induziriam a formação de alfa-tocoferil, substância oxidante. Godfried e col<sup>20</sup> relataram aceleração da aterogênese em coelhos tratados com altas doses de vitamina E. O importante a se considerar no trabalho de Keaney e col<sup>19</sup> é que elevadas doses de vitamina E, conquanto não melhorassem a função endotelial, reduziram significativamente a peroxidação das LDL sugerindo, segundo esses autores, que a função endotelial e a proliferação intimal tenham mecanismos causais distintos. Para esses autores é possível que a ação de antioxidantes, demonstrada nas partículas de LDL, tenha pequena influência na formação de células espumosas em coelhos, nos quais a dieta hipercolesterolêmica eleva principalmente as VLDL. De outro lado, Quiao e col<sup>21</sup> administrando vitamina E a cobaias, verificaram redução da área de estrias gordurosas da superfície intimal e da distribuição de proteoglicanos. Gilligan e col<sup>22</sup>, utilizando suplemento vitamínico com beta-caroteno, ácido ascórbico e vitamina E em pacientes com hipercolesterolemia, não verificaram aumento no fluxo sanguíneo do antebraço, durante administração com

acetilcolina, a despeito de diminuição na susceptibilidade das LDL plasmáticas à oxidação.

Embora existam evidências de que a vitamina E, em dose adequada, reverte a disfunção endotelial e reduza a % da área de aterosclerose da aorta de coelhos hipercolesterolêmicos, doses elevadas agravariam estas situações. Um ponto, entretanto, que merece melhor elucidação, é a falta de correlação entre a redução da peroxidação lipídica das partículas de LDL quando da administração de vitamina E e a prevista melhora da função endotelial. Em relação aos efeitos da vitamina E em humanos, dois grandes estudos de *coort*, prospectivos, foram realizados<sup>23,24</sup>. Em ambos observou-se menor risco de doença coronária relacionado a ingestão de vitamina E na dose de 60 - 100UI/dia e 100 - 250UI/dia.

**Associação do probucol com a vitamina E** - Kleivel e col<sup>25</sup> compararam o efeito do probucol e da vitamina E em coelhos WHHL, na dose de 0,025% (mg/mg) administradas por seis meses e verificaram que, somente a vitamina E reduziu a % da área de aterosclerose da aorta, embora ambas as drogas tivessem alcançado expressiva concentração plasmática. Surpreendentemente, o probucol não reduziu a produção de dienes a que os autores atribuem à dose empregada.

**Associação de drogas hipercolesterolêmicas e antioxidantes** - A associação de drogas redutoras do colesterol plasmático e substâncias antioxidantes parece ser uma proposta lógica para a reversão da disfunção endotelial na hipercolesterolemia e prevenção da aterosclerose.

Anderson e col<sup>26</sup>, em estudo randomizado, compararam o efeito da lovastatina e colestiramina com a lovastatina e probucol e verificaram que esta última associação foi mais efetiva em aumentar o diâmetro da artéria durante administração de acetilcolina, avaliada por angiografia quantitativa, em pacientes com aterosclerose coronária. Nesse estudo cabe ressaltar que a despeito da melhora da função endotelial, a terapia com antioxidante reduziu o nível plasmático de HDL. Atualmente, estamos estudando a influência da vitamina E associada à simvastatina e à pravastatina na reversão da disfunção endotelial, na hipercolesterolemia.

A aterosclerose tem sido estudada sob os mais variados enfoques. Os estudos relativos ao metabolismo das lipoproteínas talvez sejam os que mais tenham se desenvolvido. Existem especialistas no conhecimento específico dos receptores de membranas e das apolipoproteínas, das enzimas de esterificação e do transporte do colesterol, lipases, proteínas da transferências de triglicérides, etc. A genética e a biologia molecular avançam em conhecimento sobre a estrutura dos receptores, variantes genéticas das apolipoproteínas e anormalidades da enzimas em diversas situações clínicas. No campo da nutrição, reavaliam-se o efeito das dietas, dos antioxidantes e a influência das gorduras mono e poliinsaturadas, sobre os níveis de LDL e HDL plasmático. A ação do fumo e de outros fatores ambientais é freqüentemente revista em diferentes publicações.

A outra face da aterosclerose é a parede arterial. Os diferentes distúrbios do metabolismo das lipoproteínas, na determinação da aterosclerose, terão que interagir de alguma forma, com a parede vascular. Nesta interação, o endotélio parece ser o elemento chave e as iniciativas terapêuticas, seja através da redução das LDL-colesterol, do aumento das partículas de HDL ou da utilização de substâncias antioxidantes, mostram-se como proposições que têm valor pelo seu efeito final sobre a proteção endotelial. A preservação da função ou a reversão da disfunção endotelial, com restauração da produção das substâncias vasodilata-

doras e antitrombóticas dependentes do endotélio, vão influenciar a estabilização e a regressão da placa, prevenir o espasmo e a trombose e, por conseqüência, diminuir a ocorrência dos eventos clínicos e a mortalidade por doença coronária, que representam a via final comum de todo o esforço da pesquisa médica - a preservação da saúde do indivíduo.

## Agradecimentos

Ao Dr Konradin Metzke pelo estudo histológico.

## Referências

1. Schartz CJ, Valente AJ, Sprague EA - The pathogenesis of atherosclerosis. An overview. *Clin Cardiol* 1991; 14: 11-16.
2. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JI - Beyond cholesterol modification of low-density-lipoprotein that increases atherogenicity. *N Engl J Med* 1989; 320: 915.
3. Simionescu N, Simionescu M - *Endothelial Cell Biology in Health and Disease*. New York, Plenum Press, 1988.
4. Flavahan NA - Atherosclerosis or lipoprotein-induced endothelial dysfunction. *Circulation* 1992; 85: 1927-38.
5. Ambrose JA, Winters SL, Arora RL, Eng A, Riccio A, Gorlin R, Fuster V - Angiographic evolution of coronary artery morphology in unstable angina. *J Am Coll Cardiol* 1986; 7: 472-8.
6. Richardson PD, Davies MJ, Born GVR - Influence of plaque configuration and stress distribution on fissuring of coronary atherosclerotic plaque. *Lancet* 1989; 2: 941-4.
7. Fuster V, Badimin JJ, Badimon L - Clinical-pathological correlations of coronary disease progression and regression. *Circulation* 1992; 86(supl III): III-1-III-2.
8. Waters D - Plaque stabilization: a mechanism for the beneficial effect of lipid-lowering therapies in angiography studies. *Prog Cardiovasc Dis* 1994; 37: 107-20.
9. Falk E - Why do plaques rupture? *Circulation* 1992; 86(supl III): III-30-III-42.
10. Badimon JJ, Badimon L, Fuster V - Regression of atherosclerotic lesions by high density lipoprotein plasma fraction in the cholesterol-fed rabbits. *J Clin Invest* 1990; 85: 1234-41.
11. Ribeiro Jorge PA, Osaki R, Metzke K - Effects of simvastatin and pravastatin on endothelium-dependent relaxation in hypercholesterolemic rabbits. *Exp Tox Pathol* 1994; 46: 465-9.
12. Tomita T, Ezaki M, Nakamura K, Inoue Y - Rapid and reversible inhibition by low density lipoprotein of the endothelium-dependent relaxation to hemostatic substances in porcine coronary arteries. *Circ Res* 1990; 66: 18-27.
13. Ribeiro Jorge PA, Osaki R, Almeida E - Rapid reversion of endothelial dysfunction in hypercholesterolemic rabbits treated with simvastatin and pravastatin. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1996 (in press).
14. Kita T, Nagano Y, Yokote M - Probucol prevents the progression of atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit, an animal model for familial hypercholesterolemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 5928-31.
15. Carew TE, Scwenke DC, Steimberg D - Antiatherogenic effect of probucol unrelated to its hypocholesterolemic effect: evidence that antioxidants in vivo can selectively inhibit low density lipoprotein degradation in macrophage-rich fatty streaks and slow the progression of atherosclerosis in the Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 7725-9.
16. Keaney JF Jr, Gaziano JM, Xu A - Dietary antioxidants preserve endothelium-dependent vessel relaxation in cholesterol fed rabbits. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 11880-4.
17. Ribeiro Jorge PA, Osaki M, Almeida E, Neto LC, Metzke K - Effects of vitamin E on endothelium-dependent coronary flow in hypercholesterol dogs. *Atherosclerosis* 1996; 126: 43-51.
18. Stewart-Lee AL, Forster LA, Nourooz-Zadeh J, Ferns GAA, Angaard EE - Vitamin E protects against impairment of endothelium-mediated relaxations in cholesterol-fed rabbits. *Arterioscl Thromb* 1994; 14: 494-9.
19. Keaney JF Jr, Gaziano JM, Xu A et al - Low-dose alpha-tocopherol improves and higher-dose alpha-tocopherol worsens endothelial vasodilator function in cholesterol-fed rabbits. *J Clin Invest* 1994; 93: 844-51.
20. Godfried SL, Combs GF, Saroka JM - Potentiation of atherosclerotic lesions in rabbits by a higher diet level of vitamin E. *Br J Nutr* 1989; 61: 607-17.
21. Quiao Y, Yokoyama M, Kameyama K, Asano G - Effects of vitamin E on vascular integrity in cholesterol fed-guinea pig. *Arterioscl Thromb* 1993; 13: 1885.
22. Gulligan DM, Sack MN, Guetta V et al - Effect of antioxidant vitamins on low density lipoprotein and impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 1611-17.
23. Rimm EB, Stampfer MJ, Aschiero A, Giovannucci E, Colditz GA, Willett C - Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *N Engl J Med* 1993; 328: 145-56.
24. Stampfer MJ, Hennekens CH, Mason GA, Rosner B, Willett A - Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women. *N Engl J Med* 1993; 328: 1444-9.
25. Kleinveld HA, Demacker PNM, Stalenhoef FH - Comparative study on the effect of low-dose vitamin E and probucol on the susceptibility of LDL to oxidation and the progression of atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 1386-91.
26. Anderson JT, Meredith IA, Yeung AC, Frei B, Selwyn AP, Ganz P - The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Engl J Med* 1995; 332: 488-93.