

Sigurnost primjene atorvastatina sa stanovišta genotoksičnosti

Atorvastatin therapy safety from the aspect of genotoxicity

Goran Gajski, Vera Garaj - Vrhovac*

Sažetak

Primjena statina danas predstavlja jedan od osnovnih pristupa u liječenju bolesti koje su vezane uz povišenu razinu kolesterola u krvi. Osnovni cilj djelovanja ove skupine lijekova usmjeren je prema snižavanju ukupne koncentracije kolesterola u krvi inhibicijom djelovanja 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-CoA) reduktaze. Da bi se postigao što bolji terapijski učinak u što kraćem vremenskom razdoblju, primjenjuju se različite koncentracije ovih lijekova u rasponu od 10 mg/dan do 80 mg/dan. Rezultati dosadašnjih epidemioloških istraživanja pokazali su da određene koncentracije ovih lijekova mogu ostaviti posljedice na okolne stanice i tkiva nakon dulje izloženosti, od kojih su najčešće bolesti skeletnih mišića, jetrene bolesti, povećane vrijednosti serumskih transaminaza, te miopatija koja može voditi u rhabdomiolizu i bubrežno zatajenje. Istraživanja lijekova koji se koriste za snižavanje razine kolesterola u krvi provode se od njihovog otkrića u ranim sedamdesetim godinama prošloga stoljeća. Iako su se pristupi istraživanjima mijenjali tijekom godina, cilj im je uvijek bio isti – pronaći one najpogodnije te one doze u kojima bi njihova djelotvornost bila najučinkovitija, a rizik od mogućih posljedica najmanji. Ovaj rad stoga donosi pregled dosadašnjih istraživanja vezanih uz sigurnost atorvastatina u terapijske svrhe i smjernice za provođenje protokola za tesiranje lijekova.

Ključne riječi: statini, atorvastatin, kolesterol, terapija, nuspojave

Summary

The application of statin today represents one of the basic approaches to the treatment of the disease connected to high levels of cholesterol in the blood. Statins are a widely used group today found in different generic names of cholesterol-lowering agents that act by inhibiting 3-hydroxy 3-methylglutaryl CoA (HMG CoA) reductase, an enzyme which catalyses the rate-limiting step in cholesterol biosynthesis. In order to achieve the best therapeutical effects in the shortest period of time various concentrations of these drugs are administered in the range of containing 10 mg/day to 80 mg/day atorvastatin. The results of recent epidemiological researches have shown that determined concentrations of these drugs administered over a longer period can have serious side effects. The most important adverse effects in clinical practice are disease of the skeletal muscles, asymptomatic increases in liver transaminases, progressive liver disease and myopathy which can lead to rhabdomyolysis and cause acute renal failure. Researches regarding this group of drugs have been conducted since the early seventies of the last century with the same effort; to find suitable dosage that would be effective in reducing the cholesterol level. Even though the research approaches have changed through the years, the aim has always been the same; to find the most adequate and most effective dosage with the lowest side effect risk. This review paper brings therefore an overview of recent researches regarding atorvastatin therapy safety with guidelines for protocols used in drug research.

Key words: statins, atorvastatin, cholesterol, therapy, adverse effects

Med Jad 2010;40(1-2):11-17

* **Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada**, Jedinica za mutagenezu, Zagreb (Goran Gajski, dipl. ing. biol.; prof. dr. sc. Vera Garaj-Vrhovac, dipl. ing. biol.)

Adresa za dopisivanje / *Correspondence address*: Vera Garaj-Vrhovac, Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Jedinica za mutagenezu, Ksaverska cesta 2, 10000 Zagreb, Hrvatska. E-mail: vgaraj@imi.hr

Primljeno / *Received* 2009-03-24; Ispravljeno / *Revised* 2009-06-01; Prihvaćeno / *Accepted* 2009-06-10.

Uvod

Statini ili inhibitori HMG-CoA reduktaze najvažnija su skupina hipolipemika koji se u današnje vrijeme koriste za snižavanje razine kolestreola, te su postali lijekovi prvog izbora kod pacijenata s visokim rizikom pojavljivanja aterosklerotičnih kardiovaskularnih bolesti. Zbog njihove učinkovitosti, potrošnja im izrazito raste i oni postaju jedna od najčešće korištenih skupina lijekova, uglavnom u zapadnim zemljama gdje je problem hiperlipoproteinemije najizrazitiji.^{1,2,3}

Statine su 1971. godine otkrili Akira Endo i Masao Kuroda iz Tokija. Istraživali su određene mikroorganizme i otkrili da oni luče tvari koje se ponašaju kao inhibitori enzima drugih mikroorganizama. Te tvari su zapravo služile za obranu plijesni od drugih

gljivica. Naime, one su blokirale enzime koji sintetiziraju mevalonat, spoj koji je preteča ergosterola, sastavnog dijela stijenke mnogih mikroorganizama. Te spoznaje otvorile su pristup tezi da bi takve tvari mogle blokirati enzim koji u ljudskoj jetri čini dio mehanizma za sintezu kolesterola. Prvi takav spoj bio je mevastatin, tvar koju luči plijesan *Penicillium citrinum*. Nedugo nakon toga iz plijesni *Aspergillus terreus* izoliran je lovastatin, prvi statin koji je prošao sva klinička ispitivanja i postao lijek.^{4,5,6} Nakon velikog uspjeha lovastatina na tržištu postaju dostupni i drugi statini poput atorvastatina, simvastatina, pravastatina, cerivastatina, fluvastatina, te najnovijeg rozuvastatina (Tablica 1). Danas su statini, unatoč svojoj vrlo visokoj cijeni izrazito propisivani lijekovi, pogotovo u razvijenim zemljama gdje je povećana učestalost pojavljivanja ateroskleroze i hiperlipoproteinemije.^{7,8,9}

Tablica 1. Karakteristike danas dostupnih statina (prema Grundy¹⁸; Armitage²⁰).

Table 1. Characteristics of today's available statins (according to Grundy¹⁸; Armitage²⁰)

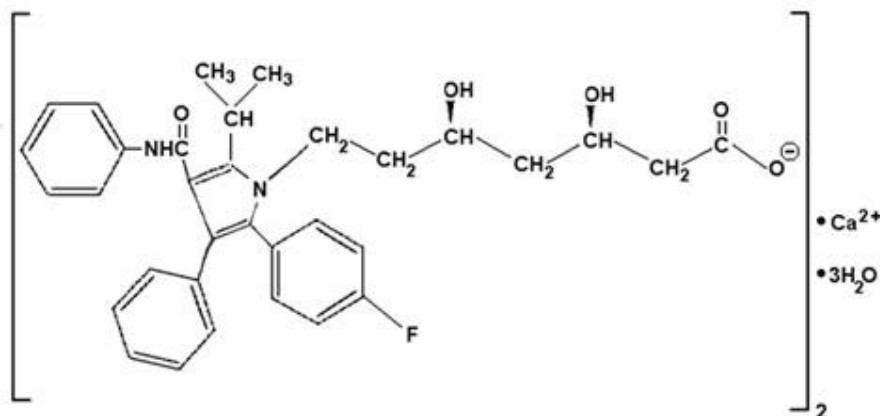
	Godina izlaska lijeka na tržište <i>Year of drug market appearance</i>	Terapijska doza (mg/dan) <i>Therapeutic dosage (mg/day)</i>	% redukcije LDL kolesterola <i>% of LDL cholesterol reduction</i>	Podrijetlo <i>Origin</i>	Napomena <i>Note</i>
Lovastatin	1987.	20-80	30% sa 40 mg <i>with 40mg</i>	prirodni <i>natural</i>	nije dostupan u UK <i>not available in the UK</i>
Simvastatin	1988.	10-80	41% sa 40 mg <i>with 40mg</i>	prirodni <i>natural</i>	-
Pravastatin	1991.	20-80	34% sa 40 mg <i>with 40mg</i>	prirodni <i>natural</i>	-
Fluvastatin	1994.	40-80	23% sa 40 mg <i>with 40mg</i>	sintetski <i>synthetic</i>	-
Cerivastatin	1997.	-	-	sintetski <i>synthetic</i>	2001. povučen sa tržišta <i>withdrawn from the market in 2001</i>
Atorvastatin	1997.	10-80	38% sa 10 mg <i>with 10mg</i>	sintetski <i>synthetic</i>	-
Rozuvastatin	2003.	5-40	45% sa 10 mg <i>with 10mg</i>	sintetski <i>synthetic</i>	-
Pitavastatin	2003.	2-4	42% sa 2 mg <i>with 2mg</i>	sintetski <i>synthetic</i>	dostupan samo u Japanu i Indiji <i>available only in Japan and India</i>

Atorvastatin

Prema načinu nastanka statine dijelimo u dvije skupine: prirodne koji su dobiveni fermentacijom iz mikroorganizama, te sintetske statine. Atorvastatin (ATV) je statin koji je u potpunosti sintetski spoj i ne dobiva se iz prirodnih izvora, nego kemijskom sintezom.^{10,11,12,13} Atorvastatin u obliku kalcijeve soli je [R-(R*,R*)]-2-(4-fluorofenil)-β,δ-dihidroksi-5-(1-metiletil)-3-fenil-4-[(fenilamino) karbonil]-1H-pirol-1-heptanska kiselina, kalcijeva sol (2:1) trihidrat (Slika 1). Empirijska formula atorvastatina u obliku

kalcijeve soli je (C₃₃H₃₄FN₂O₅)₂Ca•3H₂O. Atorvastatin u obliku kalcijeve soli je bijeli kristalični prah koji nije topljiv u vodi pH = 4 i niže. Slabo je topljiv u destiliranoj vodi, pH = 7,4 fosfatnom puferu, acetonitrilu i etanolu, dok je dobro topljiv u metanolu.^{14,15,16,17}

Atorvastatin je indiciran u kombinaciji s odgovarajućom dijetom za snižavanje razine ukupnog kolesterola, LDL kolesterola, apolipoproteina B i triglicerida u bolesnika s primarnom hiperkolesterolemijom, heterozigotnom obiteljskom hiperkolesterolemijom i miješanom hiperlipidemijom, kada dijeta i druge nefarmakološke mjere nisu dostatne.^{18,19,20,21,22}



Slika 1. Struktura atorvastatina u obliku kalcijeve soli
 Figure 1. Structure of atorvastatin calcium

Mehanizam djelovanja atorvastatina

Mehanizam djelovanja atorvastatina u osnovi je inhibicija djelovanja 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-CoA) reduktaze, enzima koji katalizira pretvorbu HMG-CoA u mevalonsku kiselinu, a koji je preteča sterola, uključujući kolesterol. Ta je pretvorba jedan od ranih stupnjeva u lancu sinteze kolesterola koja se zbiva u tijelu. Zbog blokade, te sinteze atorvastatinom, povećava se reaktivnost receptora za LDL kolesterol u jetri, pa i u ekstrahepatičkim tkivima. Ti receptori vežu dijelove LDL kolesterola i uklanjaju ih iz plazme, zbog čega se smanjuje koncentracija kolesterola u krvi. Budući da atorvastatin inhibira i izlučivanje lipoproteina vrlo niske gustoće (VLDL) u jetri, to je najvjerojatnije mehanizam smanjivanja koncentracije triglicerida u krvi, jer se smanjuje njihovo vezanje na ApoB proteinski nosač, a time se povećava njihov klirens iz plazme.^{10,11,12,13}

Pored utjecaja na plazmatske lipide, atorvastatin ima i druge učinke koji su dio njegova antiaterogena potencijala. Tako između ostaloga inhibira i sintezu izoprenoida, tvari koje imaju ulogu čimbenika rasta pri proliferaciji glatkih mišićnih stanica u intimi krvnih žila. Atorvastatin smanjuje viskoznost plazme i djelovanje nekih čimbenika koagulacije i agregacije. Na taj način poboljšava hemodinamiku, te omogućuje povoljnu ravnotežu zgrušavanja krvi. Inhibitori HMG-CoA reduktaze utječu i na metabolizam makrofaga i time koče aktivaciju makrofaga, te rupturu aterosklerotičnih plakova. U jetri se atorvastatin metabolizira u orto- i para-hidroksilirane derivate i razne metabolite beta-oksidacije. Približno

70% inhibitorynog učinka na HMG-CoA reduktaze pripada tim aktivnim metabolitima.^{14,15,16,17}

Danas se u terapijske svrhe koriste tablete koje sadržavaju 10 mg, 20 mg, 40 mg ili 80 mg atorvastatina u obliku atorvastatin kalcija, ovisno o proizvođaču. Atorvastatin pripada skupini lijekova čiji je osnovni učinak smanjivanje cjelokupnog kolesterola i LDL kolesterola u krvi. Lijek smanjuje i trigliceride, te u određenim koncentracijama povećava lipoproteine visoke gustoće (HDL) u krvi, iako je učinak povećanja HDL kolesterola uz atorvastatin nerazjašnjen.^{10,11,12,13,23,24,25}

Istraživanja atorvastatina

Iako su brojna istraživanja do danas pokazala da je terapija uz pomoć statina učinkovita kod snižavanja povišene razine kolesterola, veliki broj istraživanja proveden je u svrhu dokazivanja sigurnosti njihove uporabe.^{3,9,26} Mnogobrojna istraživanja pokazala su da ova skupina lijekova, uključujući i sam atorvastatin pokazuje nisku frekvenciju klinički značajnih nuspojava. Unatoč tome, kod nekih pacijenata uočene su nuspojave koje su u većini slučajeva blage i prolazne, no u određenim slučajevima mogu biti ozbiljne.^{27,28,29,30,31}

Najčešće su nuspojave tegobe s probavnim organima (>1% bolesnika), glavobolja (1-2%), mišićni bolovi (1,3-5,6%) i poremećaji spavanja. Klinički značajna povećanja laboratorijskih vrijednosti serumskih transaminaza javljaju se u 0,7% bolesnika koji su koristili atorvastatin u dnevnoj dozi od 10 mg do 80 mg, no manje od 0,3% bolesnika je zbog toga

prekinulo terapiju atorvastatinom, što se dovodi u korelaciju s dozom. Nuspojave se najčešće pojavljuju u bolesnika koji su uzimali 80 mg atorvastatina (2,3%). Važan, a vrlo rijedak sklop nuspojava predstavljaju teškoće s mišićima (miopatija) koje se očituju kao mišićni bolovi (0,1%), oslabljenost mišića i povećane vrijednosti mišićne frakcije kreatin kinaze. Iznimno rijetko može se razviti rhabdomioliza, koja može rezultirati bubrežnim zatajenjem, te kronično oboljenje jetre.³²

Rezultati istraživanja koje su proveli Newman i suradnici na 9416 pacijenata potvrđuju rezultate ranijih istraživanja, ali ih ne dovode u korelaciju s uporabom atorvastatina u dnevnim dozama od 10 do 80 mg. Najčešće nuspojave u ovom istraživanju bile su vezane uz probavni sustav pacijenata. Ozbiljnije nuspojave bile su rijetke, te su se povlačile prestankom uzimanja atorvastatina. Klinički značajne povećane laboratorijske vrijednosti jetrenih transaminaza u ispitivanju su se pojavile kod 0,5% pacijenata, a povećane laboratorijske vrijednosti mišićne frakcije kreatin kinaze uočene su kod samo jednog pacijenta i nisu bile povezane s miopatijom. Pojava mialgije također je vrlo niska (1,9%) i ne dovodi se u vezu s dozom, a pojava rhabdomiolize ili miopatije nije zabilježena. Sveukupni rezultati istraživanja nisu pokazali povezanost nuspojava s dozama atorvastatina od 10 do 80 mg.³³ U jednom od novijih istraživanja Newman i sur.,³⁴ provedena je retrospektivna analiza podataka iz 49 kliničkih studija u koje je uključeno 14236 pacijenata, te je rađena usporedba sigurnosti terapije atorvastatinom od 10 mg i 80 mg. Rezultati su pokazali sličnosti za obje terapijske doze, iako je kod doze od 80 mg uočen porast jetrenih enzima. Još jedna studija koja se bavila indikacijama uzrokovanim različitim dozama atorvastatina zaključila je da agresivnija terapija utječe na povećanje transaminaza u usporedbi sa terapijom manjeg intenziteta.²¹

Malo je citogenetičkih istraživanja provedeno na ovoj skupini lijekova, posebice na atorvastatinu, te su ona uglavnom bazirana na istraživanjima u uvjetima *in vitro* i *in vivo* animalnom i bakterijskom modelu.^{35,36} Akutna toksičnost atorvastatina kod glodavaca je mala s jednokratnom oralnom letalnom dozom većom od 5000 mg/kg, dok jednokratna intravenozna doza do 4 mg/kg nije toksična. Kod višekratne izloženosti atorvastatinu kroz dulje vremensko razdoblje opažene su promjene na sljedećim ciljnim organima: jetri miševa, štakora i pasa, nežlijezdanom dijelu želuca miševa i štakora, skeletnim mišićima štakora i pasa, nadbubrežnim žlijezdama miševa, te žučnom mjehuru i crijevu pasa. U štakora su primijećeni minimalni toksični učinci nakon primjene atorvastatina kroz 52 tjedna, po 70 mg/kg/dan, a kod doze

od 5 mg/kg nisu opaženi toksični učinci. Najveća tolerantna doza za miševe bila je 400 mg/kg.³⁵ U pasa su minimalni toksični učinci primijećeni nakon studije kroz 13 tjedana u dozama od 80 mg/kg i nakon studije koja je trajala 104 tjedna, kada im je davano 40 mg/kg atorvastatina.³⁶ U ispitivanjima karcinogenosti na miševima i štakorima (400 mg/kg/dan), opaženo je povećano pojavljivanje hepatocelularnog adenoma u mužjaka miševa i hepatocelularnog karcinoma u ženki miševa. Atorvastatin nije bio karcinogen za štakore, bez obzira na spol. Općenito se može reći da su toksične promjene koje uzrokuje atorvastatin slične onima koje su opažene kod ostalih lijekova iste skupine. U *in vitro* testovima (Amesov test sa *Salmonellom typhimurium* i *Escherichiom coli*, HGPRT progresivni mutacijski test u plućnim stanicama kineskog hrčka i kromosomski aberacijski test u stanicama pluća kineskoga hrčka) atorvastatin nije djelovao mutageno ni klastogeno. U *in vivo* mikronukleus testu na miševima, atorvastatin također nije imao štetno djelovanje.³⁵

Literaturnih podataka vezanih uz citogenetička istraživanja atorvastatina na ljudskim stanicama u uvjetima *in vivo* i *in vitro* je malo.^{37,38,39,40,41} Jedno od takvih istraživanja provedeno je na 13 pacijenata, a mjerio se učinak atorvastatina u dozi od 10 mg/dan na razinu lipida u krvi, na stupanj oštećenja molekule DNA u ljudskim limfocitima periferne krvi i korelacija između oksidativnog oštećenja molekule DNA i antioksidativne paraoksonazne (PON) aktivnosti. Nakon šestomjesečnog uzimanja atorvastatina, značajno se smanjila razina LDL kolesterola, promjena razine HDL kolesterola nije zabilježena, a parametri komet-testa ukazuju na smanjenje stupnja oštećenja molekule DNA.³⁷

Istraživanje Raslove i sur.³⁸ ukazuju da HDL koji ima vezanu antioksidativnu paraoksonazu (PON) može reducirati oksidaciju LDL-a i na taj način spriječiti pojavu ateroskleroze. Redukcijom tog oksidativnog učinka LDL-a smanjuje se i mogućnost oksidativnog oštećenja molekule DNA. Ova istraživanja objašnjavaju mehanizam smanjivanja oštećenja molekule DNA koja su uzrokovana oksidativnim oblikom LDL-a pri dozi od 10 mg/dan, zbog antioksidativne PON aktivnosti.³⁷ U istraživanjima u kojima je korištena viša koncentracija atorvastatina utvrđeno je da doze od 80 mg/dan, snižavaju razinu HDL kolesterola, što bi moglo imati izravni utjecaj u oksidativnom oštećenju molekule DNA.³⁹

Istraživanje provedeno na ljudskim limfocitima periferne krvi u kojima je korištena maksimalna terapijska koncentracija od 80 mg/dan pokazala su genotoksični učinak atorvastatina u uvjetima *in vitro*. Primjena alkalnoga komet-testa, te analiza izmjena

sestrinskih kromatida dovela je do statistički značajnog porasta izmjena sestrinskih kromatida, i parametara komet-testa. Analiza kromosomskih aberacija nije pokazala statistički značajan porast učestalosti oštećenja, iako je uočen porast u odnosu na kontrolne vrijednosti.^{40,41,42} U sljedećem istraživanju koje su proveli Gajski i sur.^{43,44} pokazano je da atorvastatin može uzrokovati i oksidativni oblik oštećenja molekule DNA u uvjetima *in vitro*, što je dokazano upotrebom modificiranoga komet-testa, čiji su parametri bili značajno povišeni u odnosu na standardni komet-test. U tom istraživanju uočena je i povećana incidencija svih parametara mikronukleus-testa, ukazujući na dodatna citogenetička oštećenja uzrokovana atorvastatinom u najvišoj terapijskoj dozi. Prema rezultatima dosadašnjih istraživanja, nuspojave uzrokovane statinima, uključujući atorvastatin, uglavnom su povezane s dozom od 80 mg/dan, kod koje je učestalost nuspojava bila povećana u odnosu na niže koncentracije atorvastatina.^{18,21,30,40,41,42,43,44,45,46,47}

Predstavljena istraživanja ukazuju na potrebu za što detaljnijim provođenjem protokola za detekciju genotoksičnosti *in vitro* i *in vivo*, koristeći bakterijske, životinjske i ljudske modele. Europska medicinska agencija (EMA – *European Medicines Agency*) predstavila je smjernice za provođenje takvih istraživanja prema uputama Organizacije za ekonomsku suradnju i razvoj (OECD – *Organization for Economic Co-operation and Development*), te prema posljednjem izvješću Međunarodne radionice za standardizaciju postupaka u testiranju genotoksičnosti (IWGT – *International Workshop on Standardisation of Genotoxicity Test Procedures*).^{48,49,50} Unutar toga dokumenta dan je pregled svih relevantnih tehnika i protokola koji se danas koriste u ispitivanjima genotoksičnosti koji se nužno trebaju provesti prije izlaska samoga lijeka na tržište. Testovi genotoksičnosti uključuju bakterijske mutacijske testove (Amesov test) na različitim sojevima bakterija, testove u uvjetima *in vitro* i *in vivo* na životinjskom i ljudskom modelu, koji uključuju analizu kromosomskih aberacija, mikronukleus test, te u novije vrijeme alkalnu DNA eluciju i komet-test.^{51,52,53,54,55,56,57,58} Osim ovih testova, uključivanje novih i osjetljivijih tehnika potrebno je da bi se smanjio rizik od neželjenih posljedica u kasnijoj medicinskoj primjeni.

Zaključak

Statini, a s njima i atorvastatin, danas su uglavnom dobro tolerirana skupina lijekova, te je njihova primjena u terapijske svrhe nužna i učinkovita kod pacijenata s povišenom razinom kolesterola u krvi.

Unatoč tome, brojna istraživanja ukazuju na moguće posljedice uzrokovane visokim dnevnim dozama ove skupine lijekova. Upravo zbog toga potreban je oprez kod određivanja terapijske doze za svakoga pojedinog pacijenta zbog interindividualnih razlika, te provođenje daljnjih istraživanja u svrhu utvrđivanja onih terapijskih doza koje neće predstavljati rizik za bolesnike s povišenom razinom kolesterola u krvi.

Literatura

1. Grundy SM. HMG-CoA reductase inhibitors for treatment of hypercholesterolemia. *N Engl J Med.* 1988;319:24-33.
2. Pedersen TR, Tobert JA. Benefits and risks of HMG-CoA reductase inhibitors in the prevention of coronary heart disease: a reappraisal. *Drug Saf.* 1996;14:11-24.
3. 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 adults (Adult treatment panel III), *JAMA.* 2001;285:2486-97.
4. Endo A, Kuroda M, Tanzawa K. Competitive inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase by ML-236A and ML-236B fungal metabolites, having hypocholesterolemic activity. *FEBS Lett.* 1976;72:323-6.
5. Endo A. The discovery and development of HMG-CoA reductase inhibitors. *J Lipid Res.* 1992;33:1569-82.
6. Endo A. The origin of the statins. *Atheroscler Suppl.* 2004;5:125-30.
7. Peto R, Yusuf S, Collins R. Cholesterol lowering trials in their epidemiological context. *Circulation.* 1985;72:451.
8. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaborators. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet.* 2005;366:1267-78.
9. National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation.* 2002;106:3143-421.
10. Naoumova RP, O'Neill FH, Dunn S, et al. Effect of inhibiting HMG-CoA reductase on 7 α -hydroxy-4-cholesten-3-one, a marker of bile acid synthesis: contrasting findings in patients with and without prior up-regulation of the latter pathway. *Eur J Clin Invest.* 1999;29:404-12.
11. Guerin M, Lassel TS, Le-Goff W, Farnier M, Chapman MJ. Action of atorvastatin in combined hyperlipidemia: preferential reduction of cholesteryl ester transfer from HDL to VLDL1 particles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:189-97.

12. Nosedá G, Darioli R, Keller U, et al. Evaluating the efficacy and tolerance of atorvastatin in hyperlipidemia in general practice (SWITCH Study). *Schweiz Med Wochenschr.* 2000;130:889-95.
13. Schrott HG, Knapp H, Davila M, Shurzinske L, Black D. Effect of atorvastatin on blood lipid levels in the first 2 weeks of treatment: a randomized, placebo-controlled study. *Am Heart J.* 2000;140:249-52.
14. Corsini A, Bellosta S, Baetta R, Fumagalli R, Paoletti R, Bernini F. New insights into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins. *Pharmacol Ther.* 1999;84:413-28.
15. Mahley RW, Bersot TP. Drug therapy for hypercholesterolemia and dyslipidemia. U: Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG, ur. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics.* 10 izd. New York (NY): McGraw Hill; 2001. str. 971-1002.
16. Van der Harst P, Voors AA, van Gilst WH, Bohm M, Van Veldhuisen DJ. Statins in the treatment of chronic heart failure: a systematic review. *PLoS Med.* 2006;3:e333.
17. Van der Harst P, Voors AA, van Gilst WH, Bohm M, Van Veldhuisen DJ. Statins in the treatment of chronic heart failure: biological and clinical considerations. *Cardiovasc Res.* 2006;71:443-54
18. Grundy SM. The issue of statin safety: where do we stand? *Circulation.* 2005;111: 3016-9.
19. Doggrell SA. Is atorvastatin superior to other statins? Analysis of the clinical trials with atorvastatin having cardiovascular endpoints. *Rev Recent Clin Trials.* 2006;1:143-53.
20. Armitage J. The safety of statins in clinical practice. *Lancet.* 2007;370:1781-1790.
21. Dale KM, White CM, Henyan NN, Kluger J, Coleman CI. Impact of statin dosing intensity on transaminase and creatine kinase. *Am J Med.* 2007;120:706-12.
22. Maroo BP, Lavie CJ, Milani RV. Efficacy and safety of intensive statin therapy in the elderly. *Am J Geriatr Cardiol.* 2008;17:92-100.
23. Pyorala K, Pedersen TR, Kjekshus J, Faergeman O, Olsson AG, Thorgeirsson G. Cholesterol lowering with simvastatin improves prognosis of diabetic patients with coronary heart disease: a subgroup analysis of the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Diabetes Care.* 1997;20:614-20.
24. Crick DC, Andres DA, Danesi R, Macchia M, Waechter CJ. Geranyl-geraniol overcomes the block of cell proliferation by lovastatin in C6 glioma cells. *J Neurochem.* 1998;70:2397-405.
25. Goldber RB, Mellies MJ, Sacks FM, et al. Cardiovascular events and their reduction with pravastatin in diabetic and glucose-intolerant myocardial infarction survivors with average cholesterol levels: subgroup analyses in the cholesterol and recurrent events (CARE) trial: the Care Investigators. *Circulation.* 1998;98:2513-9.
26. Pedersen TR, Faergeman O, Kastelein JJ, et al. Incremental Decrease in End Points Through Aggressive Lipid Lowering (IDEAL) Study Group. High-dose atorvastatin vs usual-dose simvastatin for secondary prevention after myocardial infarction: the IDEAL study: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2005;294:2437-45.
27. Hamilton-Craig I. Statin-associated myopathy. *Med. J Aust.* 2001;175(9):486-9.
28. Phillips PS, Haas RH, Bannykh S, et al. Statin-associated myopathy with normal creatine kinase levels. *Ann Intern Med* 2002;137:581-5.
29. Staffa JA, Chang J, Green L. Cerivastatin and reports of fatal rhabdomyolysis. *N Engl J Med.* 2002;346: 539-40.
30. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, et al. National Heart, Lung, and Blood Institute; American College of Cardiology Foundation; American Heart Association. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation* 2004;110:227-39.
31. Mukhtar RY, Reid J, Reckless JP. Pitavastatin. *Int J Clin Pract.* 2005;59:239-252.
32. Tolman KG. The liver and lovastatin. *Am J Cardiol.* 2002;89:1374-80.
33. Newman CB, Palmer G, Silbershatz H, Szarek M. Safety of atorvastatin derived from analysis of 44 completed trials in 9,416 patients. *Am J Cardiol.* 2003;92:670-6.
34. Newman C, Tsai J, Szarek M, Luo D, Gibson E. Comparative safety of atorvastatin 80 mg versus 10 mg derived from analysis of 49 completed trials in 14,236 patients. *Am J Cardiol.* 2006;97:61-7.
35. Ciaravino V, Kropko ML, Rothwell CE, Hovey CA, Theiss JC. The genotoxicity profile of atorvastatin, a new drug in the treatment of hypercholesterolemia. *Mutat Res.* 1995;343:95-107.
36. Walsh KM, Albassam MA, Clarke DE. Subchronic toxicity of atorvastatin, a hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitor in beagle dogs. *Toxicol Pathol.* 1996;24:468-76.
37. Raslova K, Dobiasova M, Nagyova A, Fabry R, Rauchova H, Dusinska M. Ciprofibrate treatment in patients with atherogenic lipoprotein phenotype: effects on HDL quality, LDL susceptibility to oxidation and DNA damage. *Eur J Clin Pharmacol.* 1998;54:697-9.
38. Wierzbicki AS, Lumb PJ, Chik G, Crook MA. Comparison of therapy with simvastatin 80 mg and atorvastatin 80 mg in patients with hypercholesterolemia. *Int J Clin Pract.* 1999;53:609-11.
39. Harangi M, Seres I, Varga Z, et al. Atorvastatin effect on high-density lipoprotein-associated paraoxonase activity and oxidative DNA damage. *Eur J Clin Pharmacol.* 2004;60:685-91.
40. Gajski G, Garaj-Vrhovac V. Application of cytogenetic endpoints and comet assay on human lymphocytes treated with atorvastatin in vitro. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* 2007;43:78-85.
41. Gajski G, Garaj-Vrhovac V. Application of comet assay on human lymphocytes treated with atorvastatin in vitro. *Toxicol Lett.* 2007;172:S169
42. Garaj-Vrhovac V, Gajski G. Assessment of atorvastatin genotoxicity on human lymphocytes using sister-chromatid exchange analysis. *Abstract Book of the 6th*

- Princess Chulabhorn International Science Congress. Bangkok; 2007, str. 105.
43. Gajski G, Garaj-Vrhovac V, Oreščanin V. Cytogenetic status and oxidative DNA-damage induced by atorvastatin in human peripheral blood lymphocytes: Standard and Fpg-modified comet assay. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008;231:85-93.
 44. Garaj-Vrhovac V, Gajski. Genotoxicity testing of therapeutical concentration of atorvastatin using the micronucleus test according to new scoring criteria. Abstract Book of the 38th Annual Meeting of European Environmental Mutagen Society. Cavtat; 2008, str. 271.
 45. Omar MA, Wilson JP. FDA adverse event reports on statin-associated rhabdomyolysis. *Ann Pharmacother* 2002;36:288-95.
 46. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, et al. Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 2004;350:1495-504.
 47. LaRosa JC, Grundy SM, Waters DD, et al. Intensive lipid lowering with atorvastatin in patients with stable coronary disease. *N Engl J Med.* 2005;352:1425-35.
 48. European Medicines Agency (EMA). Note for guidance on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use. EMA/CHMP/ICH 2008; 126642.
 49. Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). OECD Guidelines for Genetic Toxicology. 1997.
 50. Gatehouse D, Haworth S, Cebula T, et al. Recommendations for the performance of bacterial mutation assays. *Mutat Res.* 1994;312:217-33.
 51. Heddle JA, Dean S, Nohmi T, et al. In vivo transgenic mutation assays. *Environ Mol Mutagen.* 2000;35:253-9.
 52. Kasper P, Uno Y, Mauthe R, et al. Follow-up testing of rodent carcinogens not positive in the standard genotoxicity testing battery: IWGT workgroup report. *Mutat Res.* 2007;627:106-16.
 53. Greenwood SK, Hill RB, Sun JT, et al. Population Doubling: A simple and more accurate estimation of cell growth suppression in the *in vitro* assay for chromosomal aberrations that reduces irrelevant positive results. *Environ Mol Mutagen.* 2004;43:36-44.
 54. Kirsch-Volders M, Sofuni T, Aardema M, et al. Report from the *in vitro* micronucleus assay working group. *Mutat Res.* 2003;540:153-63.
 55. Corvi R, Albertini S, Hartung T, et al. ECVAM Retrospective Validation of the *in vitro* micronucleus test (MNT). *Mutagenesis.* 2008;23:271-83.
 56. Hartmann A, Agurell E, Beevers C, et al. Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. *Mutagenesis* 2003;18:45-51.
 57. Collins AR, Oscoz AA, Brunborg G, et al. The comet assay: topical issues. *Mutagenesis.* 2008;23:143-51.
 58. Storer RD, McKelvey TW, Kraynak AR, et al. Revalidation of the *in vitro* alkaline elution/rat hepatocyte assay for DNA damage: improved criteria for assessment of cytotoxicity and genotoxicity and results for 81 compounds. *Mutat Res.* 1996;368:59-101.