



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

DANILO OLIVEIRA GONÇALVES

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS HIPOGLICEMIANTE E ANTIINFLAMATÓRIO DA
LOVASTATINA EM ROEDORES**

FORTALEZA

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

DANILO OLIVEIRA GONÇALVES

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS HIPOGLICEMIANTE E ANTIINFLAMATÓRIO DA
LOVASTATINA EM ROEDORES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientador (a): Prof^ª. Dra. Glauce Socorro Barros Viana

FORTALEZA

2008

G625a Gonçalves, Danilo Oliveira

Avaliação dos efeitos hipoglicemiante e antiinflamatório da lovastatina em roedores/ Danilo Oliveira Gonçalves. – Fortaleza, 2008.

113 f. : il.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Glauce Socorro Barros Viana

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

1. Lovastatina 2. Diabetes Mellitus 3. Inflamação 4. Hipoglicêmicos I. Viana, Glauce Socorro Barros (orient.) II. Título.

CDD 616.462

DANILO OLIVEIRA GONÇALVES

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS HIPOGLICEMIANTE E ANTIINFLAMATÓRIO DA
LOVASTATINA EM ROEDORES.**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Aprovada em: / /

BANCA EXAMINADORA

Profª. Dra. Glauce Socorro Barros Viana (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará-UFC

Profª. Dra. Nylane Maria Nunes de Alencar
Universidade Federal do Ceará-UFC

Profª. Dra. Marta Maria de França Fonteles
Universidade Federal do Ceará-UFC

Dedico este trabalho à minha família, em especial minhas avós Anúzia e Francisca e aos meus grandes amigos, de onde tiro todo o apoio e MOTIVAÇÃO necessários.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Glauce Socorro Barros Viana pela orientação e atenção dispensadas a mim, imprescindíveis para a realização deste trabalho. Professora, à senhora, minha eterna gratidão.

Ao Prof. Dr. Vietla Satyanarayana Rao e Profa. Dra. Flávia Almeida Santos pela iniciação científica.

Ao Prof. José Rogério Pontes Tavares pela grande dedicação à docência e paciência nos ensinamentos.

Aos meus pais Juvenal e Maria do Carmo pela possibilidade que me deram de estar sempre me aperfeiçoando, sem contar o amor incondicional que têm por mim.

As minhas queridas irmãs Anúsia (nanana) e Patricia (jude) pelas quais tenho uma profunda admiração e de onde tiro toda minha inspiração.

A todos os inesquecíveis professores do Programa de Pós-graduação em Farmacologia, pela inspiradora sabedoria.

A minha grande amiga Iana Bantim por todos esses anos de convivência e em especial a toda família Bantim, que me acolheu como se eu fosse parte dela.

A meu grande amigo Tiago Olinda (Sheriff), o melhor farmacêutico que eu conheço por me dar o privilégio de fazer parte de sua família.

A minha querida Beatriz Bezerra, amiga de todas as horas, pelo eterno companheirismo.

Aos novos amigos, mestrandos, Otacílio, Ana Carla, Deive, Alana, Ingrid, Fernando Luis, Ticiane, Davi, Ana Paula Macedo, Edith Teles, Ítalo Cavalcante, pessoas queridas que sempre guardarei no coração.

Aos Doutorandos Roberto César (Bob), Marjorie, Silvéria Regina, Caroline Mourão, Cíntia Iamille, Professor Sérgio pelos conselhos sábios e amizade sincera.

Aos queridos bolsistas de iniciação científica Tiago Melo (Maa), Daniel, Saulo, Rhandell, Patrícia, Sâmia e Rafaela, pela preciosa ajuda.

Às queridas Xênia Maria e Ivna, técnicas do laboratório de biofisiologia da FMJ pela inestimável ajuda. Sinceramente, Obrigado.

Aos meus queridos alunos, alunas e colegas do curso de enfermagem São Camilo de Lellis pelos valiosos ensinamentos.

A todos os meus amigos da faculdade de Farmácia, Juliana Cysne, Diego Lima, Gustavo Henrique, Gisele Lima, Geysa Salmito, Maria Cristina, Raphael Virginio, Felipe Gomes, Daniel Freire, Jamile Magalhães, Clerton Linhares, Érica Martins e todos. Valeu.

Aos meus novos amigos César Osório e Rafaelly Siqueira pelos momentos divertidos e construtivos.

Ao Pearl Jam e Metallica por trazerem felicidade e prazer depois de árduas horas de trabalho.

À jovem Monique Porto pela amizade e bons momentos vividos. TA.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Aura, Chiquinho, Edmílson, Fernando, Íris, Joana e Mônica pela boa vontade e prontidão ao me ajudar.

A CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

*“Aquele que habita no esconderijo do Altíssimo,
à sombra do onipresente descansará.*

*Direi do senhor: Ele é o meu Deus, o meu
refúgio, a minha fortaleza, e nele confiarei.*

*Ele te cobrirá com suas penas, e debaixo das
suas asas te confiarás; a sua verdade será o teu
escudo. Invoquei o Senhor na angústia Ele me
ouviu e me tirou para um lugar largo.”*

Salmo 91.

RESUMO

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS HIPOGLICEMIANTE E ANTIINFLAMATÓRIO DA LOVASTATINA EM ROEDORES. Dissertação submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Farmacologia do Programa de Pós Graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil. Danilo Oliveira Gonçalves; Orientadora: Profa. Dra. Glauce Socorro de Barros Viana.

Os efeitos antiinflamatório, hipoglicemiante e hipolipemiante da lovastatina foram avaliados sobre os modelos da peritonite e edema de pata induzidos por carragenina 1% e modelo de diabetes mellitus induzida por aloxano. A lovastatina reduziu o edema de pata, expresso em mL, induzido por carragenina 1% com as doses de 2, 5 e 10 mg/kg na 2ª h ($1,33 \pm 0,12$; $1,03 \pm 0,19$; $1,19 \pm 0,21$; respectivamente), na 3ª h ($2,30 \pm 0,17$; $1,76 \pm 0,23$; $1,93 \pm 0,21$) e 4ª h ($2,44 \pm 0,12$; $1,85 \pm 0,21$; $2,06 \pm 0,35$) em comparação ao grupo controle ($1,83 \pm 0,21$; $2,86 \pm 0,24$ e $3,26 \pm 0,13$). A indometacina (20 mg/kg), utilizada como droga de referência, também reduziu o edema nas horas citadas ($0,96 \pm 0,09$; $1,28 \pm 0,23$ e $1,36 \pm 0,17$). A lovastatina reduziu a migração de neutrófilos induzida pela carragenina nas doses de 2 mg/kg ($16,0 \pm 2,1 \times 10^3/\text{mm}^3$), 5 mg/kg ($16,1 \pm 2,0 \times 10^3/\text{mm}^3$) e 10 mg/kg ($15,5 \pm 2,3 \times 10^3/\text{mm}^3$) em comparação ao grupo controle ($58,7 \pm 10,5 \times 10^3/\text{mm}^3$). A dexametasona (1mg/kg) utilizada como padrão apresentou resultado semelhante ($14,3 \pm 3,5 \times 10^3/\text{mm}^3$). Para avaliação dos efeitos hipoglicemiante e hipolipemiante induziu-se o distúrbio metabólico através da injeção de aloxano (40 mg/kg. i.v.) e utilizou-se diferentes esquemas de tratamento com lovastatina. Sobre o tratamento curativo a lovastatina reduziu a hiperglicemia causada pelo aloxano no quinto dia de tratamento com as doses de 2 mg/kg (redução de 41,7%), 5 mg/kg (43,3%), 10 mg/kg (45,3%) e 20 mg/kg (42,2%). O controle manteve a hiperglicemia ($334,1 \pm 27,7$; $335,5 \pm 24,1$). Efeitos semelhantes foram encontrados sobre os níveis de triglicerídeos: 2 mg/kg (redução de 70%), 5 mg/kg (55,4%) e 10 mg/kg (47,6%) e 20 mg/kg (31%); sobre os níveis de colesterol: 2 mg/kg (redução de 33,6%), 5 mg/kg (36,7%), 10 mg/kg (35%) e 20 mg/kg (39,8%); Sobre a AST: 2 mg/kg (redução de 36%), 5 mg/kg (45%), 10 mg/kg (43%) e 20 mg/kg (37,8%). Sobre a ALT somente a dose de 20 mg/kg mostrou redução (38,9%). Foi realizado um tratamento preventivo onde ratos foram previamente tratados por 5 dias com lovastatina 2mg/kg e em seguida induziu-se o diabetes. A lovastatina preveniu o aparecimento da hiperglicemia ($170,7 \pm 28,2$ mg/dL) em comparação ao controle ($312,4 \pm 22,0$). O mesmo ocorreu em relação aos triglicerídeos ($252,8 \pm 46,7$ e $461,3 \pm 34,7$; LOV e veículo, respectivamente) e colesterol ($112,4 \pm 9,7$ e $191,6 \pm 18,9$), contudo não houve diferença entre os grupos em relação à AST ($34,4 \pm 1,3$ e $35,7 \pm 2,1$ UI/L) e ALT ($44,2 \pm 1,1$ e $43,9 \pm 1,2$ UI/L). Também foi realizado um tratamento sub-crônico por 23 dias com lovastatina após a indução do diabetes. Os parâmetros foram analisados no dia 0, dia 5 e dia 23. Sobre a glicemia as doses de 2 mg/kg ($309,2 \pm 30,5$; $172,0 \pm 38,0$ e $176,7 \pm 33,1$) e 5 mg/kg ($346,3 \pm 21,5$; $226,7 \pm 25,8$ e $125,8 \pm 20,4$) mostraram redução em comparação ao controle ($373,0 \pm 47,5$; $347,5 \pm 26,2$ e $338,6 \pm 25,3$). O mesmo ocorreu com os triglicerídeos: 2 mg/kg ($373,1 \pm 97,6$; $67,0 \pm 48,4$ e $179,8 \pm 40,3$), 5 mg/kg ($606,9 \pm 102,0$; $195,2 \pm 30,5$ e $56,1 \pm 10,0$) e controle ($573,0 \pm 27,2$; $485,7 \pm 54,2$ e $459,7 \pm 33,7$); colesterol: 2 mg/kg ($108,0 \pm 8,4$; $74,0 \pm 5,8$ e $73,4 \pm 5,1$), 5 mg/kg ($117,5 \pm 7,2$; $75,9 \pm 4,9$ e $74,3 \pm 6,4$) e controle ($130,0 \pm 6,3$; $121,8 \pm 4,9$ e $116,4 \pm 7,8$). O tratamento mostrou efeito somente sobre a AST: 2 mg/kg ($30,4 \pm 2,3$; $38,4 \pm 3,4$ e $29,4 \pm 1,1$), 5 mg/kg ($38,7 \pm 7,7$; $46,7 \pm 3,5$ e $32,5 \pm 5,5$) e controle ($41,8 \pm 1,8$; $40,9 \pm 6,3$ e $69,6 \pm 2,4$). A associação da lovastatina (2 mg/kg) com glibenclamida (5 mg/kg) não potencializou o efeito de ambas as drogas sozinhas na redução da glicemia no quinto dia de tratamento: LOV 2 (redução de 64,5%), GLIB 5 (78%) e LOV + GLIB (77,6%). Resultado semelhante foi obtido na associação com metformina (50 mg/kg): LOV 2 (redução de 64,5%), METF 50 (72%) e LOV + METF (75%). Os resultados encontrados demonstram que a ação antiinflamatória da lovastatina é um importante efeito paralelo, principalmente na prevenção e tratamento dos distúrbios inflamatórios vasculares associados com aterosclerose e diabetes. Além disso, o efeito hipoglicemiante mostrado pela droga parece ser independente dos seus efeitos hipolipemiantes, demonstrando uma possível ação auxiliar no tratamento de indivíduos diabéticos.

Palavras-chave: Lovastatina. Diabetes mellitus. Inflamação. Hipoglicêmicos.

ABSTRACT

EVALUATION OF HIPOGLICEMIC AND ANTIINFLAMMATORY ACTIONS OF LOVASTATIN IN RODENTS. Dissertation undergoing as a requirement to obtain the Master's Degree in Pharmacology from the Pos-graduation Program in Pharmacology of the Department of Physiology and Pharmacology, Medical School, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil. Danilo Oliveira Gonçalves; Teacher: Dra. Glauce Socorro de Barros Viana.

The anti-inflammatory, hypoglycemic and hypolipidemic effects of lovastatin were evaluated on animal models of carrageenan-induced peritonitis and paw edema and alloxan induced diabetes. Lovastatin reduced the paw edema, mL, induced by carrageenan at the doses of 2, 5 and 10 mg/kg during the period of measures: 2nd h ($1,33 \pm 0,12$; $1,03 \pm 0,19$; $1,19 \pm 0,21$; respectively), 3rd h ($2,30 \pm 0,17$; $1,76 \pm 0,23$; $1,93 \pm 0,21$) and 4th h ($2,44 \pm 0,12$; $1,85 \pm 0,21$; $2,06 \pm 0,35$) when compared to control group ($1,83 \pm 0,21$; $2,86 \pm 0,24$ e $3,26 \pm 0,13$). Indometacin used as reference drug also reduced the edema ($0,96 \pm 0,09$; $1,28 \pm 0,23$ e $1,36 \pm 0,17$). Lovastatin reduced carrageenan-induced neutrophil migration at the doses of 2 mg/kg ($16,0 \pm 2,1 \times 10^3/\text{mm}^3$), 5 mg/kg ($16,1 \pm 2,0 \times 10^3/\text{mm}^3$) e 10 mg/kg ($15,5 \pm 2,3 \times 10^3/\text{mm}^3$) when compared to control group ($58,7 \pm 10,5 \times 10^3/\text{mm}^3$). Dexametasone used as reference drug showed similar results ($14,3 \pm 3,5 \times 10^3/\text{mm}^3$). To evaluate the hypoglycemic and hypolipidemic effects a metabolic disorder was induced by injection of alloxan (40 mg/kg, i.v.) and different treatments schedules with lovastatin were used. On curative treatment, lovastatin reduced the alloxan induced-hyperglycemia, mg/dL on the fifth day of treatment at the doses of 2 mg/kg (reduction de 41,7%), 5 mg/kg (43,3%), 10 mg/kg (45,3%) and 20 mg/kg (42,2%). Control group keep the level of hyperglycemia ($334,1 \pm 27,7$; $335,5 \pm 24,1$). Similar results were found above triglycerides levels : 2 mg/kg (reduction of 70%), 5 mg/kg (55,4%), 10 mg/kg (47,6%) and 20 mg/kg (31%); Over cholesterol levels: 2 mg/kg (reduction of 33,6%), 5 mg/kg (36,7%), 10 mg/kg (35%) and 20 mg/kg (39,8%); Over AST levels: 2 mg/kg (reduction of 36%), 5 mg/kg (45%), 10 mg/kg (43%) and 20 mg/kg (37,8%). Over ALT levels only the dose of 20 mg/kg showed reduction (38,9%). A five-day preventive treatment with lovastatin (2 mg/kg) was carried out before the diabetes induction. Lovastatin prevent the hyperglycemia ($170,7 \pm 28,2$ mg/dL) when compared to control ($312,4 \pm 22,0$). The same happened to triglycerides $252,8 \pm 46,7$ e $461,3 \pm 34,7$, LOV e control, respectively) and cholesterol ($112,4 \pm 9,7$ e $191,6 \pm 18,9$), however no difference between the groups were found when analyzing AST ($34,4 \pm 1,3$ e $35,7 \pm 2,1$ UI/L) and ALT ($44,2 \pm 1,1$ e $43,9 \pm 1,2$ UI/L). Also a subchronic treatment with lovastatin was undertaken. The parameters were evaluated at the day 0, day 5 and day 23. On glycemia lovastatin at the doses of 2 mg/kg ($309,2 \pm 30,5$; $172,0 \pm 38,0$ e $176,7 \pm 33,1$) and 5 mg/kg ($346,3 \pm 21,5$; $226,7 \pm 25,8$ e $125,8 \pm 20,4$) showed reduction when compared to control group ($373,0 \pm 47,5$; $347,5 \pm 26,2$ e $338,6 \pm 25,3$). The same occurred with triglycerides: 2 mg/kg ($373,1 \pm 97,6$; $67,0 \pm 48,4$ e $179,8 \pm 40,3$), 5 mg/kg ($606,9 \pm 102,0$; $195,2 \pm 30,5$ e $56,1 \pm 10,0$) and control ($573,0 \pm 27,2$; $485,7 \pm 54,2$ e $459,7 \pm 33,7$); Cholesterol: 2 mg/kg ($108,0 \pm 8,4$; $74,0 \pm 5,8$ e $73,4 \pm 5,1$), 5 mg/kg ($117,5 \pm 7,2$; $75,9 \pm 4,9$ e $74,3 \pm 6,4$) and control ($130,0 \pm 6,3$; $121,8 \pm 4,9$ e $116,4 \pm 7,8$). The treatment showed effect only over AST levels: 2 mg/kg ($30,4 \pm 2,3$; $38,4 \pm 3,4$ e $29,4 \pm 1,1$), 5 mg/kg ($38,7 \pm 7,7$; $46,7 \pm 3,5$ e $32,5 \pm 5,5$) and control ($41,8 \pm 1,8$; $40,9 \pm 6,3$ e $69,6 \pm 2,4$). The association of lovastatin (2 mg/kg) and glybenclamide (5 mg/kg) did not enhance the effects of both drugs alone on glucose levels at the day 5 of treatment: LOV 2 (reduction of 64,5%), GLIB 5 (78%) e LOV + GLIB (77,6%). A similar effect was found when lovastatin was associated to metformin (50 mg/kg): LOV 2 (reduction of 64,5%), METF 50 (72%) e LOV + METF (75%). The results found show that the anti-inflammatory effect of lovastatin is an important parallel action, especially to prevent and treat vascular inflammatory disorders associated to atherosclerosis and diabetes. Besides that, the hypoglycemic effect of the drug seems to be independent of its hypolipidemic actions, suggesting an auxiliary action to treat diabetic patients.

Key-Words: Lovastatin. Diabetes Mellitus. Inflammation. Hypoglycemic Agents.

LISTA DE FIGURAS

1. Biossíntese do colesterol.....	37
2. Estrutura da Lovastatina.....	41
3. Efeito do tratamento curativo com lovastatina sobre a glicemia.....	54
4. Efeito do tratamento preventivo com lovastatina sobre a glicemia.....	58
5. Efeito do tratamento sub-crônico com lovastatina sobre os níveis de glicemia..	62
6. Efeito do tratamento associado de lovastatina com glibenclamida sobre a glicemia.....	66
7. Efeito do tratamento associado de lovastatina com glibenclamida (doses reduzidas) sobre a glicemia.....	68
8. Efeito do tratamento associado de lovastatina com metformina sobre a glicemia.....	71
9. Efeito do tratamento associado de lovastatina com metformina (doses reduzidas) sobre a glicemia.....	73
10. Efeito da lovastatina sobre edema de pata induzido por carragenina.....	84
11. Efeito da lovastatina sobre a peritonite induzida por carragenina 1%.....	87

LISTA DE QUADROS

1. Classificação etiológica do diabetes mellitus.....	20
2. Classes terapêuticas para tratamento de DM e seus mecanismos de ação.....	30
3. Substâncias com efeito diabetogênico em animais de experimentação.....	32

LISTA DE TABELAS

1. Efeito do tratamento curativo com Lovastatina (LOV) sobre a glicemia no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.....	53
2. Efeito do tratamento curativo com Lovastatina (LOV) sobre os níveis de triglicerídeos (TG), colesterol total (COL), AST e ALT no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.....	55
3. Efeito do tratamento preventivo com Lovastatina (LOV) sobre a glicemia no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.....	57
4. Efeito do tratamento preventivo com Lovastatina (LOV) sobre os níveis de triglicerídeos (TG), colesterol total (COL), AST e ALT no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.....	59
5. Efeito do tratamento sub-crônico com Lovastatina (LOV) sobre a glicemia no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.....	61
6. Efeito do tratamento sub-crônico com Lovastatina (LOV) sobre os níveis de triglicerídeos (TG), colesterol total (COL), AST e ALT no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.....	63
7. Efeito do tratamento associado com glibenclamida no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.....	65
8. Efeito do tratamento associado com glibenclamida (dose reduzida) no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.....	67
9. Efeito do tratamento associado com metformina no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.....	70
10. Efeito do tratamento associado com metformina (dose reduzida) no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.....	72
11. Efeito do tratamento curativo com lovastatina (LOV) sobre a média do peso do (g) dos animais no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.....	75

12. Efeito do tratamento preventivo com lovastatina (LOV) sobre a média do peso (g) dos animais no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.....	76
13. Efeito do tratamento sub-crônico com lovastatina (LOV) sobre a média do peso (g) dos animais no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.....	77
14. Percentual de mortalidade dos ratos diabéticos durante o tratamento curativo com lovastatina.....	79
15. Percentual de mortalidade dos ratos diabéticos durante o tratamento preventivo com lovastatina.....	80
16. Percentual de mortalidade dos ratos diabéticos durante o tratamento sub-crônico lovastatina.....	81
17. Efeito da lovastatina sobre o edema de pata (mL) induzido por carragenina.....	83
18. Efeito da lovastatina sobre a peritonite induzida por carragenina em camundongos.....	86

LISTA DE SIGLAS

±	mais ou menos
%	Porcentagem
®	Marca registrada
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
μL	Microlitro
μg	Micrograma
v.o	Via oral
vs	Versus
dL	Decilitro
ANOVA	Análise de variância
COX-2	Ciclooxigenase 2
DEXA	Dexametasona
TOTG	Teste oral de tolerância a glicose
E.P.M.	Erro padrão da média
<i>et al.</i>	...e colaboradores
DM	Diabete mellitus
g	gramas
ICAM	Molécula de adesão intracelular
IL	Interleucina
INF	Interferon
IRC	Insuficiência renal crônica
Kg	Kilograma
mg	Miligrama
MIP-1α	Proteína inflamatória do macrófago-1 α
MIP-1β	Proteína inflamatória do macrófago-1 β
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Milimolar
RD	Retinopatia diabética
ND	Nefropatia diabética
CAD	Cetoacidose diabética
p	Nível de significância
TNF	Fator de necrose tumoral
NO	Óxido nítrico
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
HDL	Lipoproteína de alta densidade
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa

DAC	Doença arterial coronariana
DCV	Doença cardiovascular
HMG-CoA	Hidroxi-metilglutaril coenzima A
ApoB-100	Apolipoproteína B-100
ApoE	Apolipoproteína E
PCR	Proteína C-Reativa
LFA-1	Antígeno leucocitário funcional 1
EPC	Células endotélias progenitoras
NOSe	Óxido nítrico sintase endotelial
MODY	Maturity onset diabetes of the Young
LADA	Latent autoimmune diabetes in adults
PGI ₂	Prostaglandina I ₂
ET-1	Endotelina-1
Ang II	Angiotensina II
TXA ₂	Tromboxano A ₂
HbA1c	Hemoglobina glicada
PPAR-γ	Peroxisome-proliferator-activated receptor-gamma
GLP-1	Glucagon-Like Peptide-1
DPP-IV	Dipeptidilpeptidase-IV
LOV	Lovastatina
TG	Triglicerídeos
COL	Colesterol
MCP-1	Monocyte chemoattractant protein-1
NF-κB	Fator nuclear κB
hsCRP	High-sensitivity C-reactive Protein
PKB	Proteínquinase B
PKC	Proteínquinase C
IRS	Insulin receptor substrate
PI3K	Trifosfato de inositol quinase
MAPK	<i>Mytogen activated protein kinase</i>
SOD	Superóxido dismutase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
1.1 Diabetes Mellitus.....	18
1.1.1 Epidemiologia.....	18
1.1.2 Classificação.....	19
1.2 Patologia.....	23
1.2.1 Diabetes e mediadores inflamatórios.....	24
1.2.2 Diabetes e estresse oxidativo	25
1.2.3 Complicações diabéticas.....	26
1.3 Tratamento.....	29
1.4 Modelos animais de diabetes mellitus.....	31
1.5 Diabetes Mellitus e dislipidemias.....	33
1.6 Estatinas.....	34
1.6.1 Visão Geral.....	34
1.6.2 Mecanismo de Ação.....	36
1.6.3 Estatinas e Inflamação.....	38
1.6.4 Efeitos Pleiotrópicos.....	39
1.6.5 Lovastatina.....	41
2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA.....	43
3 OBJETIVOS.....	45
3.1 Objetivo geral.....	45
3.2 Objetivos específicos.....	45
4 MATERIAIS.....	46
4.1 Animais experimentais.....	46
4.2 Drogas e reagentes	46
4.3 Equipamentos.....	46
5 MÉTODOS.....	47
5.1 Diabetes induzida por aloxano.....	47
5.1.1 Tratamento curativo com lovastatina.....	47
5.1.2 Tratamento preventivo com lovastatina.....	48

5.1.3 Tratamento sub-crônico com lovastatina.....	48
5.1.4 Tratamento associado com glibenclamida.....	48
5.1.5 Tratamento associado com metformina.....	49
5.1.6 Controle do peso.....	50
5.2 Avaliação do efeito antiinflamatório da Lovastatina	50
5.2.1 Edema de pata induzido por carragenina.....	50
5.2.2 Peritonite induzida por carragenina.....	51
5.3 Análise Estatística.....	51
6 RESULTADOS.....	52
6.1 Efeito do tratamento curativo com lovastatina sobre a diabetes induzida por aloxano.....	52
6.2 Efeito do tratamento preventivo com lovastatina sobre a diabetes induzida por aloxano.....	56
6.3 Efeito do tratamento sub-crônico com lovastatina sobre a diabetes induzida por aloxano.....	60
6.4 Efeito do tratamento associado com glibenclamida.....	64
6.5 Efeito do tratamento associado com metformina.....	69
6.6 Efeito do tratamento com lovastatina sobre o peso dos animais.....	74
6.7 Efeito do tratamento com lovastatina sobre a mortalidade dos ratos diabéticos....	78
6.8 Efeito da lovastatina sobre o edema de pata induzido por carragenina.....	82
6.9 Efeito da lovastatina sobre a peritonite induzida por carragenina.....	85
7 DISCUSSÃO.....	88
8 CONCLUSÕES.....	99
REFERÊNCIAS.....	100

1 INTRODUÇÃO

1.1 Diabetes mellitus

1.1.1 Epidemiologia

Diabetes mellitus (DM) é uma doença sistêmica responsável por altos níveis de morbidade em países desenvolvidos e gradualmente está se tornando prevalente nos países em desenvolvimento. Caracteriza-se por elevados níveis de glicose no sangue devido a não-secreção de insulina ou resistência aos seus efeitos periféricos. Ambos os fatores causam distúrbios no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas (CHAUDHRY *et al.*, 2007).

O diabetes mellitus está atingindo rapidamente taxas de prevalência alarmantes nos países desenvolvidos e ameaçando a existência e a sobrevivência econômica dos países em desenvolvimento (OSADEBE; OKIDE; AKABOGU, 2004).

Um número muito grande de pacientes diabéticos surge ao redor do mundo nos dias atuais e a doença ganha uma proporção cada vez maior nos orçamentos nacionais e internacionais no que diz respeito ao planejamento e gastos com cuidados da saúde. Projeta-se que o diabetes dentro de 25 anos se tornará uma das maiores causas de morte e de incapacidade do mundo. Áreas que apresentam grande potencial de risco são a Ásia e África, onde as taxas de DM podem aumentar de duas à três vezes em comparação com os índices atuais (NAGAPPA *et al.*, 2003).

A IDF (*International Diabetes Federation*) estima que o diabetes deva ter matado aproximadamente 3,8 milhões de pessoas em 2007, o equivalente a 6% de toda a mortalidade mundial, índice este correspondente ao da mortalidade da AIDS/HIV (IDF, 2006).

A Organização Mundial da Saúde projeta que até 2020 o Brasil deve gastar cerca de US\$ 49.2 bilhões com cuidados em diabetes, doenças coronarianas e infarto. Essa estimativa é baseada na perda de produtividade resultante de morte prematura (IDF, 2006).

Diabetes tipo 2 é a forma mais comum da doença e constitui cerca de 90% da população afetada (KING; AUBERT; HERMAN, 1998). Os países que terão maior número

de diabéticos no ano de 2025 serão a Índia, China e Estados Unidos (RAMCHANDRAN; SNEHLATA; VISWANATHAN, 2002).

O número de pessoas diabéticas aumenta gradativamente em decorrência principalmente do crescimento da população, envelhecimento, urbanização e aumento na prevalência de obesidade e inatividade física. Quantificar a prevalência da doença nos dias atuais e no futuro é de extrema importância para permitir um planejamento racional e uma distribuição de recursos eficiente no combate e prevenção da doença (WILD *et al.*, 2004).

A prevalência do diabetes para todas as faixas etárias foi estimada como sendo de 2,8% no ano 2000 e 4,4% no ano de 2030. Foi projetado que o número total de casos nesse período de 30 anos deve aumentar de 171 milhões para 366 milhões de pacientes. A prevalência é maior nos homens, contudo existe uma quantidade maior de mulheres diabéticas (WILD *et al.*, 2004).

1.1.2 Classificação

A classificação atual do diabete mellitus está representada no quadro 1. As formas mais frequentes de diabetes são o diabetes tipo 1 e o diabetes tipo 2 e os termos “dependente de insulina” e “não dependente de insulina” anteriormente atribuídos respectivamente aos dois tipos de diabetes foram eliminados (GROSS *et al.*, 2002).

Quadro 1 - Classificação etiológica do diabetes mellitus

Tipo	Origem
Diabetes tipo 1	Destruição auto-imune ou idiopática das células beta, usualmente levando à deficiência completa de insulina.
Diabetes tipo 2	Graus variados de diminuição de secreção e resistência à insulina
Outros tipos específicos	A. Defeitos genéticos da função da célula β B. Defeitos genéticos da ação da insulina C. Doenças do pâncreas exócrino D. Endocrinopatias E. Indução por drogas ou produtos químicos F. Infecções G. Formas incomuns de diabetes imuno-mediado
Diabetes Gestacional	Modificações metabólicas durante a gravidez

Fonte: Gross *et al.* (2002)

Diabete mellitus tipo 1 - No diabetes tipo 1 ocorre destruição das células beta do pâncreas, usualmente por processo auto-imune (forma auto-imune; tipo 1A) ou menos comumente de causa desconhecida (forma idiopática; tipo 1B) . Na forma auto-imune há um processo de insulite e estão presentes auto-anticorpos circulantes (anticorpos anti-descarboxilase do ácido glutâmico, anti-ilhotas e anti-insulina). De uma forma geral, a instalação do quadro de diabetes tipo 1 auto-imune é relativamente abrupta e muitas vezes o indivíduo pode identificar a data de início dos sintomas (GROSS *et al.*, 2002).

A partir da década de 80, foi descrita a ocorrência de diabetes de origem auto-imune de instalação insidiosa, denominado de LADA (*Latent Autoimmune Diabetes in Adults*). A idade média dos pacientes com LADA é em torno dos 50 anos e por isto estes pacientes são inicialmente classificados de forma errônea como tipo 2 (GROOP; BOTAZZO; DONIACH, 1986). O LADA compartilha com o diabetes tipo 1 a evidência de auto-imunidade e falência de secreção de insulina pelas células beta e com o diabetes tipo 2, a idade de instalação e a presença de resistência insulínica. Por estas razões existe a sugestão de que poderia ser considerado um tipo distinto de diabetes (CARLSSON *et al.*, 2000).

A forma idiopática do diabetes tipo 1, o tipo 1B, é caracterizada pela ausência tanto de insulite como dos anticorpos relacionados ao diabetes autoimune, e existe descrição de

subtipos desta forma com instalação e evolução mais abrupta e fulminante em alguns casos (IMAGAWA *et al.*, 2000).

A consequência da perda das células beta é a deficiência absoluta da secreção de insulina, o que por sua vez deixa os pacientes suscetíveis à ocorrência de cetoacidose, muitas vezes a primeira manifestação da doença. O quadro de cetoacidose é a expressão máxima da deficiência de insulina e pode também ocorrer na presença de estresse infeccioso, ou de qualquer etiologia ou ser decorrente do uso inadequado da insulina (REPORT of the expert committee..., 1997). No diabetes tipo 1, o intervalo máximo de tempo após o diagnóstico em que o indivíduo pode permanecer sem usar obrigatoriamente insulina, ou seja, período em que não ocorre cetoacidose, é em geral de 1 a 2 anos. Este dado algumas vezes pode ser útil na classificação do indivíduo, já que se assume que o paciente que necessita de insulina apenas após 2 anos do diagnóstico da doença é em geral classificado como diabético tipo 2 (GROSS *et al.*, 2002).

O pico de incidência do diabetes tipo 1 ocorre dos 10 aos 14 anos de idade, havendo a seguir uma diminuição progressiva da incidência até os 35 anos, de tal maneira que casos de diabetes tipo 1 de início após esta idade são pouco frequentes. No entanto, indivíduos de qualquer idade podem desenvolver diabetes tipo 1 (GROSS *et al.*, 2002).

Diabete mellitus tipo 2 - O diabetes tipo 2 é mais comum do que o tipo 1, perfazendo cerca de 90% dos casos de diabetes. É uma entidade heterogênea, caracterizada por distúrbios da ação e secreção da insulina, com predomínio de um ou outro componente. A etiologia específica deste tipo de diabetes ainda não está claramente estabelecida como no diabetes tipo 1. A destruição auto-imune do pâncreas não está envolvida. Também ao contrário do diabetes tipo 1, a maioria dos pacientes apresenta obesidade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999).

A idade de início do diabetes tipo 2 é variável, embora seja mais frequente após os 40 anos de idade, com pico de incidência ao redor dos 60 anos. Estudos que aliam a obesidade à idade superior a 40 anos indicam este ponto de corte da idade como discriminatório entre os dois tipos de diabetes (HOTHER-NIELSEN *et al.*, 1988). Por outro lado, outros autores associam a ausência de episódio agudo de cetoacidose e idade superior a 20 anos como indicadores da presença de diabetes do tipo 2 (SERVICE *et al.*, 1997). Portanto, a idade de

forma isolada parece não definir a classificação, mas se aliada a outras variáveis como obesidade e ausência de cetoacidose podem sugerir o tipo de diabetes. Deve ser levado em conta que, embora a ocorrência de cetoacidose seja característica do estado de deficiência insulínica do tipo 1, o paciente tipo 2 pode apresentar este quadro na vigência de intercorrências graves como infecções ou episódios agudos de doença cerebrovascular (KITABCHI *et al.*, 2001).

A ocorrência de agregação familiar do diabetes é mais comum no diabetes tipo 2 do que no tipo 1. No entanto, estudos recentes descrevem uma prevalência duas vezes maior de diabetes do tipo 1 em famílias com tipo 2, sugerindo uma possível interação genética entre os dois tipos de diabetes. A diferenciação entre os dois tipos mais comuns de diabetes é em geral relativamente simples e baseia-se fundamentalmente em dados clínicos (LI *et al.*, 2001).

Outros tipos específicos de diabetes - Na medida em que têm sido elucidados os processos de patogênese do diabetes, tanto em relação a marcadores genéticos como aos mecanismos de doença, tem crescido o número de tipos distintos de diabetes, permitindo uma classificação mais específica e definitiva. Recentemente, tem-se dado ênfase a duas categorias de tipos específicos de diabetes: diabetes do adulto de início no jovem (*Maturity Onset Diabetes of the Young* - MODY) e diabetes de origem mitocondrial. O tipo MODY engloba um grupo heterogêneo de diabetes sem predisposição para a cetoacidose e sem obesidade, com hiperglicemia leve, com início antes dos 25 anos de idade e com várias gerações de familiares com diabetes, configurando uma herança autossômica dominante. Usualmente, estes pacientes apresentam um defeito de secreção de insulina relacionado a mutações em genes específicos. Estima-se que este tipo de diabetes seja responsável por cerca de 1 a 5% dos casos de diabetes (FAJANS; BELL; POLONSKY, 2001). O diabetes de origem mitocondrial ou diabetes com surdez e herança materna caracteriza-se por ocorrer em indivíduos jovens não-obesos. Inicialmente a hiperglicemia é leve e pode progredir lentamente para graus mais avançados que necessitam emprego de insulina. Ocorre devido a uma mutação do DNA mitocondrial interferindo com a produção de energia. Os pacientes usualmente apresentam surdez neurossensorial e distrofia macular e menos freqüentemente pode haver miopia, cardiomiopatia e doença renal (GUILLAUSSEAU *et al.*, 2001).

Diabete mellitus gestacional - O diabetes gestacional é definido como a tolerância diminuída aos carboidratos, de graus variados de intensidade, diagnosticado pela primeira vez

durante a gestação, podendo ou não persistir após o parto (WHO, 1999). Os fatores de risco associados ao diabetes gestacional são semelhantes aos descritos para o diabetes tipo 2, incluindo, ainda, idade superior a 25 anos, ganho excessivo de peso na gravidez atual, deposição central excessiva de gordura corporal, baixa estatura, crescimento fetal excessivo, polidrâmnio, hipertensão ou pré-eclâmpsia na gravidez atual, antecedentes obstétricos de morte fetal ou neonatal (GROSS *et al.*, 2002). As mulheres com diabetes gestacional devem ser reavaliadas com a medida da glicose de jejum ou com o TOTG seis semanas após o parto, com a finalidade de reclassificação do seu estado metabólico (SCHMIDT; REICHELT, 1999).

1.2 Patologia

A maior causa de morbimortalidade em indivíduos diabéticos é a disfunção imune (FAIRCHILD; KYNER; ABDU, 1982). Os quatro importantes fatores que tornam esses pacientes mais susceptíveis ao desenvolvimento de complicações são: susceptibilidade a infecções, hiperglicemia, doença vascular e danos ao sistema nervoso (POZZILLI; SIGNORE; LESLIE, 1997). Em pacientes diabéticos as infecções ocorrem de maneira mais frequente e severa do que em pacientes não-diabéticos, devido em grande parte ao desenvolvimento de respostas imunológicas tanto humorais como celulares (SMITHERMAN; PEACOCK, 1995). O aumento da susceptibilidade às infecções devido à severidade da disfunção levou a Organização Mundial da Saúde a classificar o diabetes mellitus como uma doença de imunodeficiência secundária (WHO, 1978).

Vários aspectos demonstram estar desregulados durante o processo inflamatório associado ao diabetes mellitus. Estes incluem diminuição das respostas microvasculares a mediadores inflamatórios (FORTES; GARCIA LEME; SCIVOLETTO, 1984), redução da ligação protéica e formação de edema (GARCIA; HAMAMURA; LEITE, 1973), diminuição da degranulação de mastócitos (CAVALHER-MACHADO *et al.*, 2004), diminuição da interação dos leucócitos com a parede endotelial e diminuição destes nas áreas de lesões inflamatórias (ANJOS-VALOTTA *et al.*, 2006), baixa formação de superóxido (ALBALOUREIRO *et al.*, 2007). Essas anormalidades podem contribuir para um aumento da susceptibilidade e severidade das infecções nos indivíduos diabéticos.

As principais características do DM são polidipsia, poliúria e polifagia, perda de peso, fraqueza muscular e hiperglicemia (SHAN; MING; REN, 2005). A hiperglicemia crônica gera complicações secundárias que afetam principalmente os olhos, rins, nervos e artérias (RAZ; SKYLER; SHAFRIR, 2003).

A hiperglicemia também facilita a interação da glicose e seus análogos com proteínas e lipídios. Os produtos destas reações não catalisados enzimaticamente, conhecidos comumente como produtos finais avançados de glicosilação estão relacionados com desenvolvimento em longo prazo das complicações diabéticas (BROWNLEE *et al.*, 2001). Através da interação com vários diferentes receptores nas células endoteliais, células do músculo liso e células mononucleares fagocitárias esses produtos finais de glicosilação modificam tanto a estrutura como as funções celulares, levando ao desenvolvimento das complicações microvasculares e macrovasculares do diabetes. A glicosilação não-enzimática de proteínas também deve interferir na função dos leucócitos (GOLDIN *et al.*, 2006).

1.2.1 Diabetes e mediadores inflamatórios

O desenvolvimento do conceito de que o diabetes mellitus é uma condição inflamatória é novo e interessante para a compreensão dessa condição e tem implicações em termos de patogenia e complicações da doença. O conceito de inflamação em relação às condições metabólicas como obesidade e resistência insulínica remontam a 1993 quando se demonstrou que os adipócitos expressavam uma citocina pró-inflamatória, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). Foi demonstrado que a expressão do TNF- α nos adipócitos de animais obesos estava aumentada e a neutralização deste levava à diminuição da resistência insulínica nesses animais. Estabeleceu-se assim a primeira conexão entre aumento da expressão e da concentração plasmática de uma citocina pró-inflamatória e resistência insulínica. Alguns estudos também têm demonstrado que o DM é uma condição inflamatória caracterizada por concentrações elevadas de reagentes de fase aguda no plasma, tais como o ácido siálico e IL-6. O fato de o diabetes mellitus ser uma condição inflamatória levou investigadores a pesquisar se os mediadores inflamatórios poderiam prever o desenvolvimento da doença. Vários estudos confirmaram a presença de mediadores da inflamação como preditores de desenvolvimento de DM (DANDONA *et al.*, 2004).

Citocinas são proteínas de baixo peso molecular com diversas funções metabólicas e endócrinas que participam da inflamação e resposta do sistema imune. As principais fontes de citocinas (adipocinas/adipocitocinas) são os tecidos adiposos subcutâneo e visceral (CARVALHO; COLAÇO; FORTES, 2006).

Entre os mediadores inflamatórios o TNF- α é um possível candidato a induzir resistência insulínica. Ele é produzido, entre outras células, por adipócitos e está aumentado no tecido adiposo de roedores obesos bem como em humanos. Tem sido comprovado que a produção de TNF- α está aumentada durante hiperglicemia crônica em animais e que as altas concentrações de glicose *per se* também elevam a expressão da citocina em células mononucleares do sangue periférico humano *in vitro* (MOROHOSHI *et al.*, 1996). A elevada produção de TNF- α tem sido indicada como mediadora de algumas condições patológicas do diabetes mellitus, tais como resistência à insulina e complicações diabéticas (NISHIMURA; SATOH; TOYOTA, 1997). O TNF- α induz resistência à insulina através da supressão da transdução de sinal que leva à ação do hormônio nos músculos e no tecido adiposo (FEINSTEIN *et al.*, 1993).

Dados recentes sugerem que enquanto o TNF- α age de forma parácrina no adipócito, a IL-6 circula no plasma em concentrações relativamente altas, sendo, portanto, muito mais importante sistemicamente. De fato, ela é chamada de “citocina endócrina”. Alguns dos efeitos metabólicos da IL-6 (uma citocina pleiotrópica) demonstram que, em estudos *in vitro*, essa citocina induziu inibição dependente de dose da liberação de insulina estimulada por glicose. *In vivo*, a IL-6 recombinante induziu alterações metabólicas usualmente encontradas em estados catabólicos, aumentando as concentrações plasmáticas de glicose sem alterar significativamente as concentrações plasmáticas de insulina ou peptídeo C. Apesar das células gordurosas contribuírem com 1/3 da concentração circulante de IL-6, existem outras fontes importantes de produção, como os monócitos. Esse mecanismo não parece ser importante em concentrações normais de glicose de jejum, mas pode ser importante no DM. Nesse contexto, talvez a IL-6 represente um fator hormonal que causa resistência insulínica (CARVALHO; COLAÇO; FORTES, 2006).

1.2.2 Diabetes e estresse oxidativo

Uma das complicações tardias do diabetes mellitus é a formação de produtos finais avançados de glicosilação (VLASSARA; PALACE, 2002). Alguns desses produtos podem reagir com outras proteínas e também são capazes de causar aumento da permeabilidade e espessura da parede dos vasos sanguíneos com consequente perda de elasticidade (DOMINICZAK *et al.*, 1990). A glicosilação de proteínas e a autooxidação da glicose leva à geração de radicais livres em pacientes diabéticos, o que por sinal catalisa a peroxidação de lipídios (ONORATO *et al.*, 2000). O estado antioxidante no diabético está comprometido o que o torna incapaz de exercer proteção tecidual contra os danos causados pela oxidação derivada dos radicais livres (BONNEFONT-ROUSSELOT *et al.*, 2000).

É bem conhecido que o estresse oxidativo desregula várias funções celulares e que desenvolve importante papel na fisiopatologia de muitas doenças. Pacientes diabéticos estão expostos ao estresse oxidativo e as complicações da doença parecem estar relacionadas a esse processo. Hiperglicemia é uma das principais causas do desenvolvimento do estresse oxidativo. Quando os níveis glicêmicos estão elevados, os altos níveis de açúcares redutores promovem glicosilação com consequente produção de produtos finais de glicosilação. Espécies reativas de oxigênio também são formadas nesse processo e desencadeiam a lesão tecidual. Recentemente, a progressiva deterioração funcional das células beta em diabéticos tipo 2 tem sido relacionada com a lesão tecidual decorrente do estresse oxidativo. Devido à baixa expressão de enzimas antioxidativas as células beta são muito mais vulneráveis à lesão quando comparadas com outros tecidos (LENZEN; DRINKGERN; TIEGE, 1996). Além disso, o estresse oxidativo também é responsável pelo aumento da apoptose das células beta e supressão da biossíntese de insulina (KANETO *et al.*, 1996). Existem evidências crescentes que sugerem que apoptose é o principal mecanismo que leva as células beta à morte com consequente desenvolvimento de diabetes tipo 1, e que a maior causa da morte dessas células é a infiltração de linfócitos nas ilhotas pancreáticas (KAY *et al.*, 2000).

1.2.3 Complicações diabéticas

O diabetes mellitus constitui-se num dos principais problemas de saúde pública devido à elevada prevalência, complicações crônicas incapacitantes e aumento da mortalidade dos indivíduos afetados.

Nefropatia Diabética - A ND acomete cerca de 35% dos indivíduos com DM tipo 1 e entre 10 a 40% daqueles com DM tipo 2 (REDDI; CAMERINI-DAVALOS, 1990). O pico de sua manifestação clínica ocorre por volta dos 15 anos de evolução do DM, estágio este caracterizado pela presença de macroproteinúria (excreção urinária de 500mg de proteínas nas 24 hs) e hipertensão arterial (MOGENSEN; CHRISTENSEN; VITTINGHUS, 1983).

Cetoacidose diabética (CAD) – A CAD tem sido registrada com frequência significativa e crescente nas últimas décadas em estudos de incidência nos Estados Unidos e em alguns países europeus, o que também tem sido observado em unidades de emergência no Brasil. A cetoacidose é uma complicação aguda típica do paciente diabético do tipo 1 e esse conjunto de distúrbios metabólicos se desenvolve em uma situação de deficiência insulínica grave ou absoluta, comumente associada a condições estressantes que levam ao aumento dos hormônios contra-reguladores (glucagon, GH, glicocorticóides, catecolaminas). O aumento da atividade cetogênica é um componente fisiopatológico marcante em tal situação de emergência clínica. Os fatores precipitantes da cetoacidose ou do estado hiperglicêmico hiperosmolar são, em sua maioria, de natureza infecciosa aguda (respiratória, urinária, genital, cutânea, etc.), frequentemente associada ou não, ao tratamento insulínico interrompido ou inadequado às condições do paciente. A hiperglicemia, resultante tanto da diminuição da utilização periférica de glicose como do aumento de sua produção endógena (glicogenólise e gliconeogênese) é um componente fisiopatológico característico da situação, justificando vários dos sintomas e sinais típicos da CAD, tais como polidipsia, poliúria e graus variados de desidratação, que podem chegar à hipovolemia acentuada e choque circulatório (FOSS-FREITAS; FOSS, 2003).

Retinopatia diabética (RD) - É a principal causa de cegueira adquirida em vários países. Nos EUA estima-se que a cada ano surgem cerca de 5.000 cegos decorrentes do DM (NEELY *et al.*, 1998).

Disfunção endotelial – O termo disfunção endotelial refere-se a um desequilíbrio na produção endotelial de mediadores que regulam o tônus vascular, agregação plaquetária, coagulação e fibrinólise, sendo o tônus vascular o aspecto mais estudado. Em pacientes com diabetes estável a qualidade de vida e as expectativas de sobrevida são determinadas pelas complicações da doença. A disfunção endotelial é uma complicação diabética bem documentada e está presente nas várias formas de diabetes e até em indivíduos pré-diabéticos

(SZABÓ *et al.*, 2002). A patogênese dessa disfunção endotelial inclui o aumento da via dos polióis, estado redox celular alterado, formação aumentada de diacilglicerol, ativação de isoformas específicas de proteíno-quinase C e formação não-enzimática de produtos avançados finais de glicosilação. Muitas dessas vias desencadeiam a produção de agentes oxidantes derivados do oxigênio e nitrogênio além de radicais livres, tais como os ânions superóxido e peroxinitrito, que desenvolvem um importante papel na patogênese da disfunção endotelial e de outras complicações. (CERIELLO *et al.*, 2003).

Pé diabético - Denomina-se *pé diabético* um estado fisiopatológico multifacetado caracterizado por lesões que surgem nos pés da pessoa com diabetes que ocorrem como consequência de neuropatia em 90% dos casos, de doença vascular periférica e de deformidades. As lesões geralmente decorrem de trauma e freqüentemente se complicam com gangrena e infecções ocasionadas por falhas no processo de cicatrização as quais podem resultar em amputação quando não se institui tratamento precoce e adequado (PEDROSA *et al.*, 1998). A neuropatia periférica constitui-se no fator significativo nesses casos conduzindo à lesão/ulceração do membro inferior. Encontra-se presente em aproximadamente 80% a 85% dos casos (REIBER; LIPSKY; GIBBONS, 1998) e pode comprometer as fibras sensitivas, motoras e autonômicas. O componente sensitivo produz perda gradual da sensibilidade à dor, percepção da pressão plantar, temperatura e propriocepção. Quanto ao componente motor, este contribui para atrofia e fraqueza dos pequenos músculos dorsais desencadeando desequilíbrio nos tendões flexores e extensores, deformidades e alterações no modo de caminhar. Já o componente autonômico reduz ou suprime o suor nos pés, deixando-os secos e predispondo-os a rachaduras e fissuras, além de desencadear alterações arteriovenosas (SUMPIO, 2000).

Neuropatia diabética - O mecanismo da neuropatia diabética não está claro, porém é atribuído à deterioração da função do nervo subjacente às anormalidades metabólicas e isquemia endoneural da circulação microvascular. Quando a neuropatia periférica se instala é irreversível, portanto é particularmente importante que pessoas com diagnóstico recente tenham precaução em relação à sua progressão, mantendo adequado controle glicêmico (BOIKE; HALL, 2002).

1.3 Tratamento

O Diabetes é conhecido das ciências médicas há mais tempo do que qualquer outra doença metabólica hereditária. Contudo, os métodos de tratamento existentes não são completamente satisfatórios (DHANABAL *et al.*, 2007).

Tratamentos farmacológicos (insulina e hipoglicemiantes orais) assim como tratamentos não-farmacológicos (dieta e exercício) podem ser utilizados para o controle do diabete mellitus.

O aumento recente da quantidade de classes de drogas hipoglicemiantes é notável, uma vez que desde a introdução da insulina (início do século XX), das sulfoniluréias e biguanidas (décadas de 1940 e 1950) nenhuma modalidade terapêutica inovativa tinha sido apresentada até uma década atrás. Atualmente, dez diferentes classes de drogas estão ou estarão disponíveis para o tratamento do diabetes mellitus. A relação destas classes é apresentada no quadro 2 (VERVOORT; TACK, 2007).

Quadro 2 - Classes terapêuticas para tratamento de DM e seus mecanismos de ação

Agente	Modo de ação
Insulina	Estimulação dos receptores de insulina e captação de glicose
Sulfoniluréias	Estimulação da secreção de insulina
Biguanidas	Inibição da gliconeogênese hepática
Tiazolidinodionas	Aumento da sensibilidade do músculo à insulina, diminuição da lipotoxicidade e modulação de adipocitocinas
Inibidores da α-glicosidade	Retardam a absorção de glicose
Meglitinides	Estimulação da secreção de insulina
Análogos GLP-I	Estimulação da secreção (glicose-dependente) de insulina e inibição da liberação de glucagon
Inibidores da DPP-IV	Estimulação da secreção (glicose-dependente) de insulina e inibição da liberação de glucagon via aumento endógeno de GLP-I

Fonte: Vervoort e Tack (2007)

Além do uso da insulina, hipoglicemiantes orais também são largamente utilizados no controle da hiperglicemia.

Tiazolidinodionas (ou agonistas dos receptores PPAR- γ , *peroxisome-proliferator-activated receptor-gamma*) – Representam uma classe de drogas com novo mecanismo de ação. Como exemplos podem citar a troglitazona e a pioglitazona. Em resposta à ativação dos receptores PPAR- γ a expressão de diferentes genes dentro das células alvo muda. PPAR- γ é expresso principalmente em células de gordura e sua ativação leva à diferenciação de pré-adipócitos. Dessa forma, as células de gordura captam triglicerídeos mais facilmente, enquanto a lipólise é inibida. Subseqüentemente, o nível de ácidos graxos livres diminui resultando em um aumento da sensibilidade à insulina. Outros mecanismos devem

desempenhar algum papel na melhora da resposta à insulina (SEMPLE; CHATTERJEE; O'RAHILLY, 2006).

Sulfoniluréias - Atuam através do fechamento dos canais de potássio ATP-dependentes, abertura dos canais de cálcio, efeito que aumenta as concentrações intracelulares deste íon. O resultado final é a aceleração da secreção de insulina (KOBAYASHI *et al.*, 2002). Exemplo: glibenclamida.

Biguanidas - Constituem outra classe importante de hipoglicemiantes orais e atuam por inibir a gliconeogênese no fígado, aumentando a densidade de receptores de baixa e alta afinidade para a insulina e diminuindo a resistência aos efeitos periféricos da insulina (KOBAYASHI *et al.*, 2002). Exemplo: metformina.

Inibidores da alfa-glicosidase - diminuem a absorção de carboidratos na dieta por inibirem a digestão de amido no duodeno, logo reduzindo a pico hiperglicêmico pós-prandial (CONIFF *et al.*, 1995). Exemplo: acarbose.

Análogos GLP-I (glucagon-like peptide-I) – Estimulam a secreção de insulina, suprimem a liberação de glucagon e lentificam o esvaziamento gástrico (RATNER *et al.*, 2006). Exemplo: exenatida.

1.4 Modelos animais de diabetes mellitus

Modelos animais têm sido usados extensivamente na pesquisa sobre o diabetes. No início do século passado estudos usaram cães pancreatectomizados para confirmar o papel do pâncreas na homeostasia da glicose o que acabou culminando na descoberta da insulina. Nos dias atuais os experimentos são mais contidos e sujeitos a restrições legais e éticas. A maioria dos estudos é desenvolvida em roedores, embora alguns estudos necessitem de animais de maior porte. Várias toxinas, incluindo estreptozotocina e aloxano, induzem hiperglicemia em ratos e camundongos. Atualmente, técnicas de biologia molecular têm produzido um vasto número de modelos animais para o estudo do diabetes, incluindo animais *knock-in e knock-out* (REES; ALCOLADO, 2005).

Um dos métodos mais diretos para se estudar os efeitos da hiperglicemia em um animal é a remoção total ou parcial do pâncreas. A espécie de animal usada é determinada por vários fatores. Em geral, quanto menor o animal mais facilmente o experimento pode ser desenvolvido e mais barato se torna o procedimento. Por isso que ratos e camundongos pancreotomizados são os mais comumente utilizados. Contudo, uma questão importante quando se usa roedores é o fato deles não refletirem adequadamente a situação em um ser humano. Essa justificativa é ocasionalmente utilizada para o uso de animais maiores, tais como cães, gatos, porcos e primatas (REES; ALCOLADO, 2005).

Métodos não-cirúrgicos de indução de hiperglicemia que causam danos ao pâncreas também existem. Estes incluem a administração de toxinas tais como estreptozotocina (JUNOD *et al.*, 1969) e aloxano (LENZEN; PATTEN, 1988). O quadro 3 lista uma série de agentes que conhecidamente causam diabetes.

Quadro 3 - Substâncias com efeito diabetogênico em animais de experimentação

aloxano
estreptozotocina
vacor
ditizona
8-hidroxiquinolona

Fonte: Rees e Alcolado (2005)

Modelos animais de diabetes tipo 1 – O DM1 em humanos é caracterizado por destruição específica das células beta pancreáticas comumente associada a um dano imuno-mediado. Embora o dano deva ocorrer de maneira silenciosa durante vários anos, durante a apresentação clínica o indivíduo apresenta pequena massa de células beta sobreviventes e a desordem tende a progredir para uma total insulinopenia (DAHLQUIST, 1998).

A estreptozotocina é uma nitrosuréia isolada do fungo *Streptomyces achromogenes* e que possui um largo espectro antibiótico e atividade antineoplásica (BONO, 1976). É um forte agente alquilante que interfere no transporte de glicose (WANG; GLEICHMANN, 1998), na função da glicoquinase (ZAHNER; MALAISSE, 1990) e promove a quebra de DNA (BOLZAN; BIANCHI, 2002). Uma única alta dose de estreptozotocina pode promover diabetes em roedores pelos seus efeitos tóxicos diretos.

É bem conhecido que o aloxano induz diabetes mellitus em ratos através de uma ação necrótica seletiva nas células beta do pâncreas levando dessa forma a uma deficiência na produção de insulina (INDIAN PHARMACOPOEIA, 1996). Essa deficiência de insulina produz uma série de aberrações metabólicas nos animais, tais como hiperglicemia, degradação protéica e aumento nos níveis de colesterol e triglicerídeos (GHOSH; SURYAWANSHI, 2001). Vários estudos demonstram que hiperglicemia e hiperlipidemia são características comuns no diabetes mellitus induzido por aloxano em animais (UMESH *et al.*, 2005). Neste modelo uma grande quantidade de radicais livres é produzida, levando a um dano oxidativo (DHAR *et al.*, 2007). O aloxano é um reagente tóxico que causa hipertrofia renal e severas anormalidades em parâmetros séricos: uréia, creatinina, AST e ALT (CUTFIELD *et al.*, 1984).

O aloxano é convertido em ácido dialúrico pela redução de dois elétrons, que por sua vez apresenta alta instabilidade e é convertido novamente em aloxano em uma reação acompanhada pela redução de oxigênio ao radical livre oxidativo, O_2 , e H_2O_2 . Este último através da reação de Fenton na presença de íons Fe^{2+} gera radicais hidroxil livres altamente tóxicos (SZKUDELSKI *et al.*, 2001).

Em suma, o efeito diabetogênico do aloxano é resultante da soma de vários processos, entre eles a oxidação de grupos sulfidríla essenciais, inibição de glicoquinase, geração de radicais livres e alterações nas concentrações intracelulares de cálcio (SZKUDELSKI *et al.*, 2001).

Modelos animais de diabetes tipo 2 – Modelos animais de DM2 tendem a ser tão complexos e heterogêneos quanto a condição humana. Em alguns animais a resistência à insulina predomina, enquanto em outras a falência das células beta é proeminente. Modelos nos quais a intolerância à glicose é parte de um fenótipo mais amplo de obesidade, dislipidemia e hipertensão também servem para avaliar a DM2 humana (LEIBEL; CHUNG; CHUA, 1997).

1.5 Diabetes mellitus e dislipidemias

O diabetes tipo 1 é normalmente associado com níveis normais de LDL e HDL colesterol e níveis elevados de triglicerídios, sendo este último efeito principalmente devido

ao pobre controle glicêmico. Esse pobre controle associado a uma inadequada produção de insulina leva a uma redução da atividade da lipoproteína lipase com consequente inaptabilidade de remoção de quilomícrons e VLDL. Quando o controle é muito precário os níveis de HDL podem estar diminuídos e os níveis de LDL elevados (O'BRIEN; NGUYEN ; ZIMMERMAN, 1998).

O diabetes tipo 2 geralmente está associado com níveis reduzidos de HDL, níveis elevados de triglicerídeos e níveis normais de LDL, no entanto, ocorre uma mudança no tamanho das partículas de LDL para uma forma menor, mais densa e mais aterogênica. Essas mudanças são devidas à produção hepática aumentada de VLDL e à depuração desregulada de VLDL e quilomícrons, levando ao aumento da produção de subespécies menores e mais densas de LDL. A redução do HDL ocorre primariamente devido ao aumento da transferência de colesterol do HDL para lipoproteínas ricas em triglicerídeos, com concomitante transferência de HDL para triglicerídeos. Essas partículas ricas em triglicerídeos são então hidrolisadas pela lipase hepática e rapidamente catabolizadas e removidas. Resistência à insulina aumenta a atividade da lipase hepática que então hidrolisa fosfolípidos em partículas de LDL e HDL, levando a partículas menores e mais densas de LDL e diminuição das subespécies HDL₂ (GINSBURG, 2006).

1.6 Estatinas

1.6.1 Visão geral

O número de mortes causadas por doenças cardiovasculares e, em especial, por doença cardíaca coronariana tem declinado significativamente, mas as doenças cardiovasculares continuam sendo as responsáveis pelo alto índice de mortalidade e morbidade em homens com idade superior a 45 anos e mulheres acima de 65 anos. O número de mortes por doenças cardiovasculares no mundo todo no ano de 2002 foi de 16,7 milhões de pessoas, sendo que as doenças cardíacas coronarianas foram responsáveis por 7,2 milhões das mortes verificadas (CAMPOS; CARVALHO, 2006). Nos Estados Unidos cerca de 215.000 pessoas morrem a cada ano de doença cardiovascular com 650.000 novos casos de infarto do miocárdio (SIERRA, 2003). No Brasil, de acordo com o anuário estatístico de 2001, 257.179 pessoas morreram no ano de 1999 devido a doenças do aparelho circulatório, representando 32,3% dos óbitos registrados. Deste valor, 76.639 mortes foram causadas por doenças isquêmicas do

coração, 83.475 por doença cerebrovascular e 97.065 devido às demais doenças do aparelho circulatório. Em 2002 o número de mortes no Brasil envolvendo doenças cardíacas foi de 139.601 (CAMPOS; CARVALHO).

Diversos estudos epidemiológicos envolvendo pacientes hiperlipidêmicos têm mostrado uma relação direta entre o risco de desenvolvimento de doença arterial coronariana (DAC) (“Coronary Heart Disease”, CHD) e lesões ateroscleróticas devido aos altos níveis de lipídios sanguíneos geralmente na forma de lipoproteínas. A hiperlipidemia ou hiperlipemia pode ser causada por distúrbio genético, influências ambientais ou por uma combinação destes fatores (WITZTUM, 1996).

As estatinas são os fármacos mais usados para tratamento das hiperlipidemias com o propósito de diminuir os níveis de lipoproteínas plasmáticas ricas em colesterol e reduzir os riscos de DAC. Estudos comprovam sua ação na redução da mortalidade por doença cardiovascular (DCV). Seus benefícios são independentes de sexo ou idade sendo usados tanto na prevenção primária quanto na secundária de DCV (PASTERNAK *et al.*, 2002). Estes efeitos são resultantes da atividade inibidora das estatinas sobre a enzima HMG-CoA redutase (hidroximetilglutaril-CoA redutase) com a propriedade de bloquear a conversão do substrato HMG-CoA em ácido mevalônico, inibindo os primeiros passos da biossíntese de colesterol (CAMPOS; CARVALHO, 2006).

Mevastatina (ou compactina) foi o primeiro inibidor de HMG-CoA redutase descoberto em 1976 originalmente isolado como produto metabólico de culturas de *Penicillium citrinium*, sendo sua afinidade pelo sítio enzimático cerca de 10.000 vezes superior ao substrato HMG-CoA (LIAO; LAUFS, 2005).

Investigações recentes têm mostrado diversos efeitos importantes das estatinas, como ação antineoplásica (JAKOBISIAK; GOLAB, 2003), inibição da reabsorção óssea (STAAL *et al.*, 2003), aumento da disponibilidade de óxido nítrico endotelial (KALINOWSKI *et al.*, 2002), relaxamento do músculo liso (MUKAI *et al.*, 2003), atenuação da hipertrofia do miócito cardíaco induzida pelo endotélio (NISHIKIMI *et al.*, 2002), inibição da proliferação de células endoteliais induzidas por fatores angiogênicos (VINCENT *et al.*, 2002), diminuição dos níveis de citocina pró-inflamatória IL-6 liberada pelo tecido adiposo (VAN HARMELEN *et al.*, 2003).

Em 2002, atorvastatina foi o fármaco mais vendido no mundo, rendendo para o fabricante Pfizer cerca de US\$ 8 bilhões (CAMPOS; CARVALHO, 2006). No momento, seis estatinas são empregadas clinicamente: lovastatina (Mevacor®), pravastatina (Pravachol®), sinvastatina (Zocor®), derivado semi-sintético, e fluvastatina (Lescol®), primeiro agente totalmente sintético, derivado de mevalonolactona produzido na forma racêmica (WERMUTH, 1996). A nova geração de estatinas sintéticas enantiomericamente puras é representada por atorvastatina (Lipitor®) e rosuvastatina (Crestor®).

1.6.2 Mecanismo de ação

O mecanismo de ação das estatinas para obtenção da redução do colesterol se deve a inibição da enzima HMG-CoA redutase, por meio de uma afinidade destes fármacos com o sítio ativo da enzima (Figura 1). Esta inibição é reversível e competitiva com o substrato HMG-CoA (McTAGGART; BUCKETT; DAVIDSON, 2001).

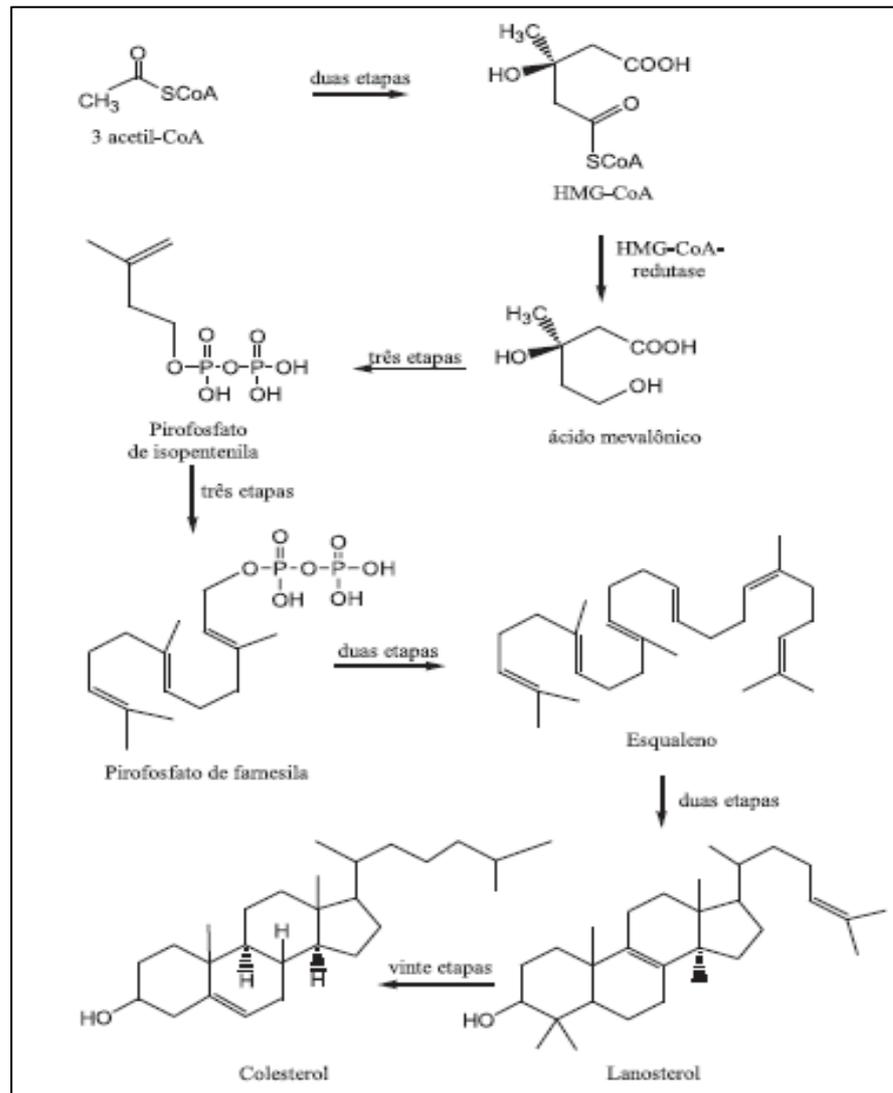


Figura 1 - Biossíntese do colesterol

O colesterol é um componente esteróide da membrana celular e um precursor importante dos hormônios andrógenos, estrogênios, progesterona e adrenocorticóides. A primeira etapa da biossíntese de colesterol no organismo é realizada pela associação de três moléculas de acetil-Coenzima A (acetil-CoA) para formação de 3-hidróxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA). A conversão seguinte de HMG-CoA em ácido mevalônico é catalisada pela enzima HMG-CoA redutase e representa a etapa mais importante de controle da biossíntese de colesterol no organismo (Figura 1) (CAMPOS; CARVALHO, 2006).

A diminuição de colesterol plasmático é acompanhada pela redução dos níveis de LDL. Apesar da importância deste mecanismo no efeito hipocolesterolêmico as estatinas também induzem o aumento de receptores LDL, onde a lipoproteína LDL se fixa no tecido

hepático, ocorrendo depuração de partículas como apo B-100 por endocitose. O aumento de atividade dos receptores de LDL hepático é um dos fatores mais importantes para diminuição dos níveis de LDL plasmático. Por esta razão os inibidores de HMG-CoA redutase possuem dupla ação, diminuem a biossíntese de colesterol e causam aumento do número de receptores LDL hepático, aumentando a remoção de LDL circulantes (CAMPOS; CARVALHO, 2006).

1.6.3 Estatinas e inflamação

Vários estudos demonstram que as estatinas podem reduzir o risco cardiovascular por outros mecanismos, além dos efeitos na redução do colesterol, pois esses fármacos possuem efeitos pleiotrópicos que incluem a melhora da disfunção endotelial (aumento da liberação de óxido nítrico derivado do endotélio), efeitos antioxidantes diretos (inibindo a oxidação da LDL-C e VLDL-C) e indiretos, ação antiinflamatória (demonstrada pela redução da PCR e moléculas de adesão e pela inibição da proliferação de células do músculo liso na placa aterosclerótica) e efeitos imunomodulatórios (LIAO, 2005). Parte do benefício do tratamento com inibidores da HMG CoA-redutase seria atribuído a estes efeitos pleiotrópicos, como o antiinflamatório, observado clinicamente pela diminuição dos marcadores de atividade inflamatória (NISSEN *et al.*, 2005).

Como inibidores competitivos da HMG-CoA redutase, as estatinas causam a diminuição do mevalonato (metabólito da síntese do colesterol) e conseqüentemente de outros compostos isoprenóides como o farnesilpirofosfato e geranylgeranylpirofosfato. Essas proteínas atuam na isoprenilação pós-tradução de proteínas, como os membros da família da GTPase, Ras, RhoA e Rac. A isoprenilação é um passo fundamental para a associação dessas pequenas proteínas à membrana plasmática e é essencial para que estas apresentem atividade biológica. Deste modo, as estatinas, por exemplo, ocasionam uma inibição de Rho aumentando a expressão da óxido nítrico sintase, que estaria inibida na presença da proteína Rho isoprenilada. A inibição do Rac-1 pela ausência de isoprenilação atenua a produção de espécies reativas do oxigênio (LANDSBERGER *et al.*, 2005).

Embora os mecanismos da ação dos inibidores da HMG-CoA redutase na diminuição das moléculas de adesão e da proteína C reativa ainda não sejam completamente compreendidos sugere-se que a inibição das proteínas isopreniladas seja responsável por parte do efeito antiinflamatório destes fármacos (ARNAUD; BRAUNERSREUTHER; MACH,

2005). Entretanto, os inibidores da HMG-CoA redutase podem bloquear as β -2 integrinas e o antígeno de função leucocitária-1 (LFA-1) (que são sinais co-estimuladores para ativação das células T) por ligação a um sítio alostérico dentro do LFA-1, independente do efeito na HMG-CoA redutase e, conseqüentemente, das proteínas isopreniladas. (ELROD; LEFER, 2005).

1.6.4 Efeitos pleiotrópicos

As estatinas exercem muitos efeitos independentes da diminuição do colesterol sérico, conhecidos como pleiotrópicos (LIAO; LAUFS, 2005). Estes efeitos incluem ação reguladora na função endotelial, aumento da estabilidade de placas ateroscleróticas, diminuição do estresse oxidativo e inflamação e diminuição da resposta trombogênica. Além destes, as estatinas possuem efeitos extra-hepáticos benéficos no sistema imune, sistema nervoso central e ósseo. Muitos destes efeitos pleiotrópicos são mediados pela inibição de isoprenóides, os quais servem como ligantes lipídicos para moléculas envolvidas em processos de sinalização celular (CAMPOS; CARVALHO, 2007).

Função endotelial - Uma importante característica da disfunção endotelial é a síntese ineficaz, liberação e atividade do óxido nítrico derivado de endotélio. O óxido nítrico endotelial parece inibir vários componentes de processos aterogênicos, por exemplo, mediando relaxamento vascular e inibição de agregação plaquetária (RADOMSKI *et al.*, 1992). Estudos prévios afirmaram que as estatinas poderiam restabelecer a função endotelial, em parte, pela diminuição dos níveis de colesterol sérico. No entanto, foi verificado que o restabelecimento da função endotelial ocorreu anteriormente à diminuição do colesterol, sugerindo que efeitos adicionais à redução do colesterol estão envolvidos neste processo, principalmente o aumento de óxido nítrico endotelial por estimulação e sub-regulação da enzima óxido nítrico sintase (eNOS) (KUREISHI *et al.*, 2000). As estatinas também têm sido vinculadas à capacidade de aumento do número de células endoteliais progenitoras circulantes (EPCs), além de induzirem a angiogênese através da proliferação, migração e sobrevivência das células EPCs circulantes (DIMMELER *et al.*, 2001).

Inflamação vascular - Estudos recentes sugerem que as estatinas possuem propriedades antiinflamatórias devido à capacidade de reduzirem o número de células

inflamatórias em placas ateroscleróticas (VAUGHAN; GOTTO; BASSON, 2000). Os mecanismos envolvidos estão relacionados à inibição da adesão de moléculas, tais como moléculas de adesão intercelular (ICAM-1), as quais estão ligadas ao recrutamento de células inflamatórias. Adicionalmente, as estatinas atenuam a expressão de P-selectinas e a adesão de leucócitos pelo aumento da produção de óxido nítrico endotelial. Este efeito independente de colesterol das estatinas não foi observado em ratos deficientes em eNOS, sugerindo que esta enzima foi mediadora nos efeitos vasculares protetores das estatinas (CAMPOS; CARVALHO, 2007).

Demência - Dados epidemiológicos recentes têm mostrado que as estatinas podem exercer efeitos protetores contra a doença de Alzheimer e outros tipos de demência. A doença de Alzheimer está relacionada aos efeitos da proteína β -amilóide a qual pode se acumular no cérebro causando neurotoxicidade e neurodegeneração. Estudos experimentais e clínicos sugerem que há uma relação fisiopatológica entre proteína β -amilóide e níveis séricos de colesterol, sendo que níveis aumentados desta proteína e da apolipoproteína E (ApoE) são fatores de risco para a doença de Alzheimer (CORDER *et al.*, 1993). Desta forma, independentemente das estatinas parecerem induzir alterações na distribuição de colesterol celular no cérebro, tais efeitos exercidos pelas estatinas podem ser mediados via NO ou ApoE (KIRSH *et al.*, 2003). Segundo pesquisas realizadas, a prevalência de doença de Alzheimer em pacientes tratados com estatinas é 60% mais baixa em comparação a pacientes que fazem uso de outros fármacos utilizados no tratamento de doenças cardiovasculares. Assim sendo, evidências recentes têm estimulado a investigação de estatinas como potenciais novos agentes antiinflamatórios e protetores vasculares para o tratamento de outras doenças cerebrais, tais como esclerose múltipla e depressão (CAMPOS; CARVALHO, 2007).

Neoplasias - As estatinas têm sido relacionadas às propriedades de inibição de proliferação e indução de apoptose em uma grande variedade de células tumorais, sendo desencadeados efeitos antitumorais em modelos animais contra melanoma, carcinoma mamário, adenocarcinoma pancreático, fibrosarcoma, glioma, neuroblastoma e linfoma, resultando em retardamento de crescimento tumoral e inibição de processos metastáticos. Em estudos pré-clínicos, as estatinas têm demonstrado a capacidade de potencializar os efeitos antitumorais de algumas citocinas e quimioterápicos. Efeitos citostáticos contra células tumorais têm sido observados com o uso de pravastatina, sinvastatina, fluvastatina e cerivastatina (NEWMAN *et al.*, 1997). As estatinas foram capazes de inibir metástase de

células de melanoma e células de carcinoma mamário, bem como metástase de células de adenocarcinoma de cólon, em ratos (CAMPOS; CARVALHO, 2007).

1.6.5 Lovastatina

A lovastatina (ou mevinolina) foi isolada de culturas de *Aspergillus terreus* e *Monascus ruber* com estrutura semelhante à mevastatina (grupo 6'-metílico adicional), mas com potência superior. Em 1987 a lovastatina foi aprovada pelo FDA para uso terapêutico, enquanto mevastatina foi abandonada devido a problemas na morfologia intestinal em cachorros e toxicidade hepatocelular verificada em ratos (LIAO; LAUFS, 2005).

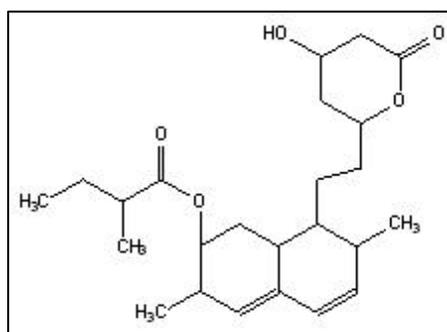


Figura 2 - Estrutura da Lovastatina

Lovastatina, pravastatina e, mais recentemente, sinvastatina apresentaram atividade antiaterogênica, relacionada à melhora da disfunção endotelial e vasomotora, diminuição da formação de trombos plaquetários e modulação na atividade fibrinolítica em pacientes hipercolesterolêmicos. Estes efeitos contribuem para redução de quadros de isquemia do miocárdio e incidência de infarto, com conseqüente diminuição do índice de mortalidade total causado por doenças cardiovasculares (FARNIER, 1998). Lovastatina é usada como pró-farmaco na forma de lactona, que será enzimaticamente convertida pela ação de esterases ao correspondente hidróxi-ácido (ácido 3,5-dihidroxi-3-metilglutárico), ativo para inibição de HMG-CoA redutase (CAMPOS; CARVALHO, 2007).

Lovastatina é a estatina mais estudada no que se refere a potenciais efeitos antitumorais, tendo sido capaz de exercer atividade antiproliferativa contra uma variedade de tumores, incluindo carcinoma de seio, próstata, estômago, pulmão, pâncreas, bexiga, adenocarcinoma de cólon, neuroblastoma, melanoma e células de leucemia mielóide aguda (NEWMAN *et al.*, 1997).

A lovastatina e outras estatinas também inibiram o crescimento de várias células normais e linhagens de células não transformadas, incluindo células de músculo liso, mioblastos de músculo estriado, células endoteliais, fibroblastos, células do epitélio alveolar e linfócitos B, mas células normais parecem ser menos sensíveis aos efeitos antiproliferativos das estatinas se comparadas às células tumorais (MURAKAMI *et al.*, 2001). Com relação a efeitos antimetastáticos, lovastatina tem inibido etapas essenciais de processos metastáticos, nomeados ligação, motilidade e invasão, sendo que fluvastatina e cerivastatina também suprimiram a invasão de células tumorais humanas (DENOYELLE *et al.*, 2001).

2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

O diabetes mellitus é uma das dez maiores causas de morte no mundo. Sua incidência está aumentando especialmente nos países em desenvolvimento. Um aumento de 35 % é esperado entre 1995 e 2025 entre pessoas acima de 20 anos. Apesar da prevalência ser maior em países desenvolvidos, o crescimento absoluto da doença afetará mais fortemente os países em desenvolvimento, onde a maior parte da população mundial vive. Os países mais pobres também vão sofrer as conseqüências do rápido envelhecimento de sua população, uma vez que a prevalência do diabetes aumenta com a idade (KING; AUBERT; HERMAN, 1998; PASSOS *et al.*, 2005).

As doenças cardiovasculares estão listadas como causa de morte em 65% da população de diabéticos (KESARI *et al.*, 2007). Altos níveis de colesterol total e especialmente de LDL são os mais importantes fatores de risco coronariano (TEMME *et al.*, 2002).

Ensaio clínico têm mostrado que os inibidores da 3-hidroxi-3-metil-glutaril coenzima A redutase (HMG-CoA), as estatinas, reduzem significativamente a morbimortalidade por doença cardiovascular em pacientes com ou sem doenças coronarianas (SHEPHERD *et al.*, 1995). Estas drogas foram desenvolvidas para inibir a enzima que limita a velocidade de síntese do colesterol no fígado, conseqüentemente diminuem a produção hepática de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e aumentam a expressão de receptores hepáticos para LDL, diminuindo dessa forma as concentrações de LDL circulantes (VAUGHAN; MURPHY; BUCKLEY, 1996).

As estatinas reduzem a incidência de derrame, infarto do miocárdio e morte vascular em pacientes com doenças vasculares ou fatores de risco (BYINGTON *et al.*, 2001). Evidências clínicas e experimentais sugerem que parte das ações benéficas das estatinas é independente das propriedades hipolipidêmicas, ação conhecida como pleiotrópica (VAUGHAN; MURPHY; BUCKLEY, 1996).

Este trabalho de pesquisa visa avaliar as características pleiotrópicas da lovastatina buscando uma possível atividade antiinflamatória e hipoglicemiante deste composto, o que

auxiliaria bastante no uso terapêutico deste fármaco e no tratamento de doenças cardiovasculares associadas ou não ao diabetes mellitus.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito do tratamento com lovastatina sobre modelos de inflamação e diabetes mellitus.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da lovastatina em diferentes esquemas de tratamento (curativo, preventivo, sub-crônico, associado com sulfoniluréia e biguanida) sobre o diabetes induzido por aloxano.
- Analisar o efeito da lovastatina sobre o edema de pata induzido por carragenina.
- Analisar o efeito da lovastatina sobre a migração de leucócitos induzida por carragenina.

4 MATERIAIS

4.1 Animais experimentais

Foram utilizados ratos Wistar, machos, jovens (3 meses, 200-250g) e camundongos albinos (*Mus musculus*) variedade Swiss, machos, adultos (25-30g) provenientes do biotério central da Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte (FMJ), mantidos à temperatura de 25°C com um ciclo de 12h de claro-escuro com livre acesso a água e comida. O comitê de ética institucional aprovou os protocolos experimentais e todos os experimentos foram desenvolvidos seguindo as diretrizes do *National Institute of Health, Bethesda, USA*.

4.2 Drogas e reagentes

Produto	Origem
Lovastatina	EMS, Brasil
Aloxano monoidratado	Sigma, EUA
Carragenina	Sigma, EUA
Indometacina	Sigma, EUA
Dexametasona	EMS, Brasil
Glibenclamida	Sigma, EUA
Metformina	EMS, Brasil
Kits de análise bioquímica	Labtest, Brasil

4.3 Equipamentos

Equipamento	Origem
Balança para animais (mod. MF-6)	Filizola, Brasil
Balança analítica (mod. AX-200)	Shimadzu, Japão
Pletismógrafo	Ugo Basile, Brasil
Espectrofotômetro	Beckman, Alemanha
Microscópio	Quimis, EUA
Banho-maria	Fanen, Brasil

5 MÉTODOS

5.1 Diabetes Mellitus induzido por aloxano

O diabetes foi induzido pela administração da toxina aloxano que destrói seletivamente as células beta pancreáticas, seguindo-se um protocolo de dose única de 40 mg/Kg por via intravenosa, após leve sedação com éter seguindo as regras de boas condutas em experimentação animal, utilizando-se a veia peniana como acesso. Após 48 horas da administração do aloxano os ratos com glicemia igual ou superior a 200 mg/dL foram selecionados para o experimento. Neste mesmo período foram analisados os outros parâmetros bioquímicos: triglicerídeos, colesterol, AST e ALT. Em seguida realizaram-se os diferentes esquemas de tratamento com lovastatina, como mencionado adiante.

5.1.1 Tratamento curativo com Lovastatina

Foi realizado primeiramente um tratamento curativo com lovastatina com doses variando de 2 a 20 mg/kg com o objetivo de avaliar o efeito da droga-teste na reversão dos distúrbios metabólicos induzidos pelo aloxano, uma vez estes já estabelecidos.

Os animais (ratos Wistar, machos, 200-250 g, n = 10) receberam uma única dose de aloxano monoidratado (40 mg/Kg) por via intravenosa (intrapeniana) e 48 h depois o sangue foi coletado pelo plexo orbital para a análise. Os animais com níveis de glicemia igual ou superior a 200 mg/dL foram selecionados para o experimento.

Os animais diabéticos foram então divididos em grupo controle, tratados com veículo (água destilada) e lovastatina nas doses de 2; 5; 10 e 20 mg/Kg, todos por via oral (gavagem). Seguiu-se um tratamento de 5 dias e no final novamente o sangue foi coletado para a análise do efeito da lovastatina sobre a glicemia, colesterol, triglicerídeos, AST e ALT.

5.1.2 Tratamento preventivo com Lovastatina

Com o intuito de avaliar um possível efeito protetor da lovastatina sobre o aparecimento da hiperglicemia induzida pelo aloxano realizou-se um esquema de tratamento preventivo, onde os animais foram tratados previamente com a droga-teste e com água destilada antes da administração do agente indutor do diabetes.

Os animais (ratos Wistar, machos, 200-250 g, n = 10) foram tratados previamente durante 5 dias com veículo (água destilada) e lovastatina na dose de 2 mg/kg, ambos por via oral (gavagem). Após o final do tratamento, os animais receberam uma única dose de aloxano monoidratado (40 mg/Kg) por via intravenosa (intrapeniana), sob sedação com éter, e 48 h depois o sangue foi coletado pelo plexo orbital para a análise do efeito da lovastatina sobre a glicemia, colesterol, triglicerídeos, AST e ALT.

5.1.3 Tratamento sub-crônico com Lovastatina

Para avaliar se o efeito hipoglicemiante da lovastatina persistia ou alterava parâmetros que indicam lesão hepática, AST e ALT, realizou-se um esquema de tratamento sub-crônico, onde os ratos diabéticos foram tratados por 23 dias consecutivos após a indução do diabetes.

Os animais (ratos Wistar, machos, 200-250 g, n = 10) receberam uma única dose de aloxano monoidratado (40 mg/Kg) por via intravenosa (intrapeniana) e 48 h depois o sangue foi coletado pelo plexo orbital para a análise. Os animais com níveis de glicemia igual ou superior a 200 mg/dL foram selecionados para o experimento.

Os animais diabéticos foram então divididos em grupo controle, tratados com veículo (água destilada) e lovastatina nas doses de 2 e 5 mg/Kg, todos por via oral. Seguiu-se um tratamento por 23 dias e no final novamente o sangue foi coletado para a análise do efeito da lovastatina sobre a glicemia, colesterol, triglicerídeos, AST e ALT.

5.1.4 Tratamento associado com glibenclâmida

Para avaliar uma possível indicação de qual seria o mecanismo de ação hipoglicemiante da lovastatina efetuou-se um esquema de tratamento associado com

glibenclamida, sulfoniluréia bloqueadora de canais de potássio ATP-dependentes, na tentativa de verificar a ocorrência de sinergia.

Os animais (ratos Wistar, machos, 200-250 g, n = 10) receberam uma única dose de aloxano monoidratado (40 mg/Kg) por via intravenosa (intrapeniana) e 48 h depois o sangue foi coletado pelo plexo orbital para a análise. Os animais com níveis de glicemia igual ou superior a 200 mg/dL foram selecionados para o experimento.

Os animais diabéticos foram então divididos em grupo controle, tratado com veículo (água destilada); lovastatina nas doses de 0,5 e 2 mg/Kg; glibenclamida nas doses de 2 e 5 mg/Kg; e as associações LOV 0,5 + GLIB 2 mg/Kg e LOV 2 + GLIB 5 mg/Kg, todos por via oral (gavagem), sendo que a glibenclamida sempre foi administrada 45 min antes da lovastatina. Seguiu-se um tratamento por 5 dias e no final novamente o sangue foi coletado para a análise do efeito da lovastatina e das associações sobre a glicemia.

5.1.5 Tratamento associado com metformina

Tratamento associado com metformina também foi realizado com o objetivo de ter acesso ou indicação do mecanismo de ação hipoglicemiante da lovastatina. O efeito de ambas as drogas sozinhas e administradas juntas foi analisado em busca de uma possível ação de potencialização da droga-teste.

Os animais (ratos Wistar, machos, 200-250 g, n = 10) receberam uma única dose de aloxano monoidratado (40 mg/Kg) por via intravenosa (intrapeniana) e 48 h depois o sangue foi coletado pelo plexo orbital para a análise. Os animais com níveis de glicemia igual ou superior a 200 mg/dL foram selecionados para o experimento.

Os animais diabéticos foram então divididos em grupo controle, tratado com veículo (água destilada); lovastatina nas doses de 0,5 e 2 mg/Kg; metformina nas doses de 20 e 50 mg/Kg; e as associações LOV 0,5 + METF 20 mg/Kg e LOV 2 + METF 50 mg/Kg, todos por via oral, sendo que a metformina sempre foi administrada 45 min antes da lovastatina. Seguiu-se um tratamento por 5 dias e no final novamente o sangue foi coletado para a análise do efeito da lovastatina e das associações sobre a glicemia.

5.1.6 Controle do Peso

O tratamento com aloxano mostrou ser bastante debilitante para os animais, principalmente para os tratados somente com veículo. Por esta razão o acompanhamento do peso dos animais foi de extrema importância para avaliar um efeito protetor da lovastatina.

O peso, em gramas, dos animais foi monitorado antes, durante e no final de cada experimento. Para cada esquema de tratamento (curativo, preventivo e sub-crônico) o ganho ou redução ponderal foram registrados.

5.2 Avaliação do Efeito antiinflamatório da Lovastatina

Muito dos efeitos de proteção cardiovascular das estatinas se devem a uma diminuição dos processos inflamatórios subsequentes ao aumento dos níveis de colesterol, tais como formação de placas de ateroma e modificações macro e microvasculares. Tais efeitos antiinflamatórios também poderiam estar envolvidos em uma melhora na sensibilidade à insulina em pacientes diabéticos.

Para ter acesso aos efeitos antiinflamatórios da lovastatina, neste trabalho foram realizados dois modelos de inflamação: edema de pata e peritonite induzidos por carragenina.

5.2.1 Edema de pata induzido por carragenina

O edema de pata foi induzido em ratos Wistar, machos, 200-250 g, divididos em grupos de 8 animais cada, pela injeção subplantar de 0,1 mL de carragenina 1% dissolvida em água destilada. A pata contralateral recebeu o mesmo volume de água destilada.

Os animais foram tratados, via oral, com veículo (água destilada), lovastatina (2; 5 e 10 mg/Kg) ou indometacina (20 mg/Kg) e após 1 h receberam a carragenina. O volume das patas foi medido 1 h, 2 h, 3 h, 4 h e 24 h após a administração de carragenina utilizando-se pletismógrafo (UGO BASILE[®]) e o edema foi expresso com a diferença, em mililitros, entre a pata que recebeu carragenina e a pata contralateral que recebeu apenas água destilada (WINTER *et al.*, 1962).

5.2.2 Peritonite induzida por carragenina

A peritonite foi induzida em camundongos Swiss, machos, 25-30 g, divididos em grupos de 8 animais cada, pela injeção intraperitoneal de 0,25 mL de carragenina 1% dissolvida em água destilada.

Os animais foram tratados, via oral, com veículo (água destilada), lovastatina (2; 5 e 10 mg/Kg) ou por via intraperitoneal com dexametasona (1 mg/Kg) utilizada como controle positivo. Após 1 h da administração do veículo e da lovastatina e 30 min a da dexametasona os animais receberam a carragenina. Depois de quatro horas, tempo necessário para a instalação do processo inflamatório agudo, os animais foram sacrificados e a cavidade peritoneal lavada com 2 mL de salina heparinizada. O lavado foi retirado e deste coletado uma alíquota de 20 μ L que foram adicionados a 400 μ L de solução de TURK. Em seguida 10 μ L foram retirados para contagem de leucócitos totais em câmara de Neubauer utilizando-se microscópio óptico.

5.3 Análise estatística

Os resultados foram expressos como \pm E.P.M (erro padrão da média). Para comparação múltipla dos dados paramétricos foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA), e o nível de significância entre os grupos foi determinado pelo teste de múltipla comparação de Student Newman-Keul. Em todas as análises estatísticas considerou-se o nível crítico para rejeição da hipótese de nulidade menor que 5% ($p < 0,05$).

6 RESULTADOS

6.1 Efeito do tratamento curativo com lovastatina sobre a diabetes induzida por aloxano

A lovastatina reduziu a hiperglicemia, mg/dL, causada pelo aloxano no quinto dia de tratamento com as doses de 2 mg/kg na ordem de 41,7% ($316,1 \pm 20,8$; $184,1 \pm 31,4$), 5 mg/Kg reduziu 43,3% ($356,5 \pm 23,4$; $202,0 \pm 21,3$), 10 mg/Kg 45,3% ($374,4 \pm 35,2$; $204,7 \pm 26,5$) e 20 mg/Kg 42,2% ($368,2 \pm 27,0$; $212,8 \pm 36,7$). O grupo tratado somente com o veículo, água destilada, manteve a hiperglicemia nos cinco dias de tratamento ($334,1 \pm 27,7$; $335,5 \pm 24,1$). (**Tabela 1 e Figura 3**).

Sobre os níveis de triglicerídeos, mg/dL, o tratamento curativo com lovastatina provocou redução significativa nas doses de 2 mg/Kg com redução da ordem de 70% ($565,2 \pm 122,6$; $166,2 \pm 39,2$), 5 mg/Kg 55,4% ($517,5 \pm 89,2$; $231,4 \pm 49,5$) e 10 mg/Kg 47,7% ($307,1 \pm 49,1$; $161,0 \pm 21,3$). A dose de 20 mg/Kg não mostrou redução significativa ($172,3 \pm 29,9$; $118,9 \pm 16,5$). O grupo controle manteve os mesmos níveis ($228,3 \pm 51,7$; $253,6 \pm 43,1$). (**Tabela 2**).

A lovastatina reduziu significativamente os níveis de colesterol, mg/dL, nas doses de 2 mg/Kg com redução de 33,6% ($119,4 \pm 11,3$; $79,2 \pm 5,3$), 5 mg/Kg 36,7% ($127,0 \pm 8,0$; $80,3 \pm 5,6$), 10 mg/Kg 35% ($95,4 \pm 8,7$; $60,3 \pm 5,2$) e 20 mg/Kg 39,8% ($120,8 \pm 4,0$; $72,7 \pm 5,7$). O grupo tratado somente com veículo não mostrou redução ($132,3 \pm 12,1$; $145,2 \pm 8,6$). (**Tabela 2**).

O tratamento com lovastatina também mostrou efeito sobre os níveis de AST nos quais as doses mostraram redução significativa em comparação ao dia 0, ou seja, após 48 h da administração do aloxano (**Tabela 2**). A dose de 2 mg/Kg reduziu em 36 % ($75,3 \pm 3,2$; $48,5 \pm 2,6$ UI/L), a de 5 mg/Kg reduziu 45% ($78,6 \pm 2,1$; $42,6 \pm 3,6$), a de 10 mg/Kg 43% ($67,4 \pm 7,3$; $38,4 \pm 7,9$) e a de 20 mg/Kg 37,8% ($82 \pm 1,0$; $51 \pm 5,2$) O mesmo efeito não foi encontrado em relação à ALT, onde somente a dose de 20 mg/Kg mostrou redução significativa de 38,9% ($62,4 \pm 8,8$; $38,1 \pm 1,8$) (**Tabela 2**).

Tabela 1 - Efeito do tratamento curativo com Lovastatina (LOV) sobre a glicemia no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.

Grupo	Glicemia dia 0 (mg/dL)	Glicemia dia 5 (mg/dL)
Normal	83,8 ± 15,5	78,7 ± 13,8
Veículo	334,1 ± 27,7	335,5 ± 24,1
LOV 2 mg/kg	316,1 ± 20,8	184,1 ± 31,4*
LOV 5 mg/kg	356,5 ± 23,4	202,0 ± 21,3**
LOV 10 mg/kg	374,4 ± 35,2	204,7 ± 26,5***
LOV 20 mg/kg	368,2 ± 27,0	212,8 ± 36,7**

Os valores representam a média ± E.P.M. para a glicemia dos ratos diabéticos, ou seja, com glicemia igual ou maior que 200 mg/dL, no início do tratamento (dia 0), 48 h após a administração de aloxano, e após cinco dias de tratamento (dia 5). Foram utilizados grupos de 6 animais. * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001 redução significativa em comparação à média da glicemia no dia 0 (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

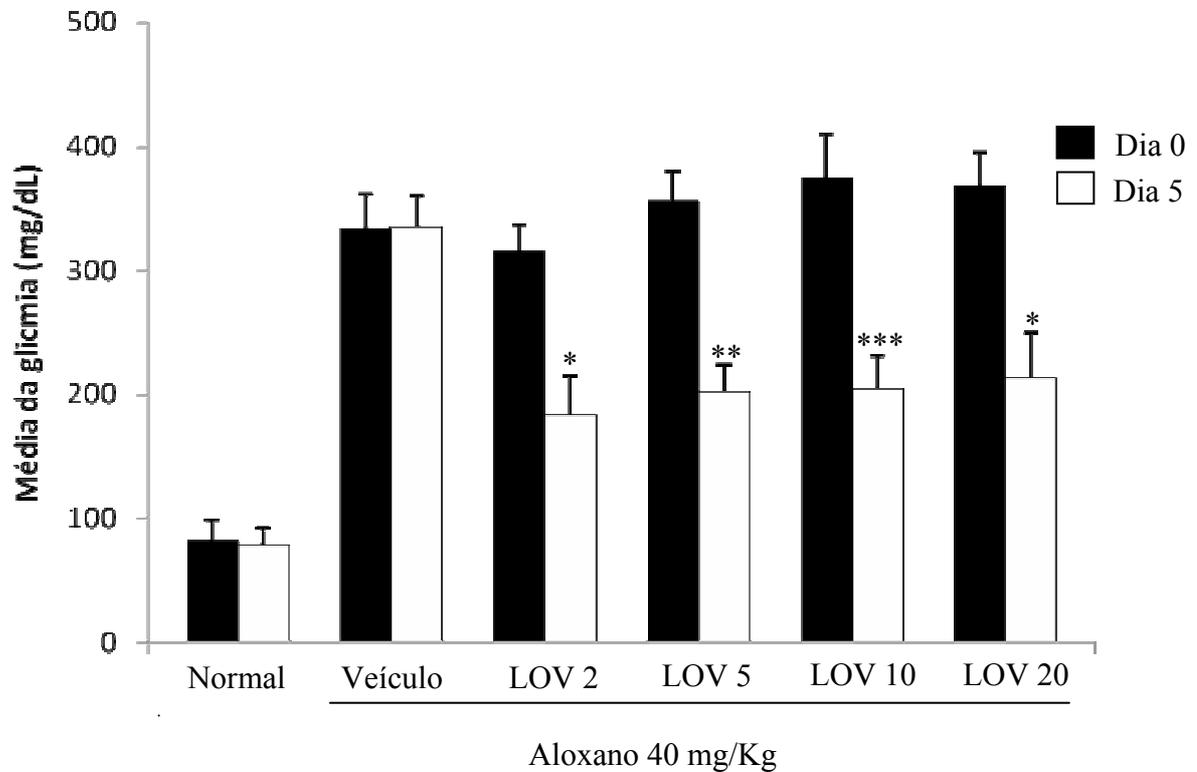


Figura 3 - Efeito do tratamento curativo com lovastatina sobre a glicemia

O diabetes foi induzido com uma única injeção de aloxano (40 mg/Kg) por via intravenosa. Após 48 h, os ratos diabéticos (glicemia ≥ 200 mg/dL) foram selecionados para o estudo e iniciou-se (dia 0) o tratamento com lovastatina nas doses de 2; 5; 10 e 20 mg/Kg, que durou por 5 dias. Neste último dia (dia 5) o sangue foi coletado novamente para a análise do efeito da lovastatina sobre a glicemia. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ redução significativa em comparação à média da glicemia no dia 0 (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

Tabela 2. Efeito do tratamento curativo com Lovastatina (LOV) sobre os níveis de triglicérides (TG), colesterol total (COL), AST e ALT no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.

Grupo	TG (mg/dL)		COL (mg/dL)		AST (UI/L)		ALT (UI/L)	
	Dia 0	Dia 5	Dia 0	Dia 5	Dia 0	Dia 5	Dia 0	Dia 5
Normal	95,3 ± 20,3	82,4 ± 18,7	72,3 ± 10,4	71,2 ± 13,6	36,5 ± 6,1	38,4 ± 2,8	28,3 ± 5,2	25,3 ± 4,3
Veículo	228,3 ± 51,7	253,6 ± 43,1	132,3 ± 12,1	145,2 ± 8,6	56,1 ± 5,8	68,4 ± 7,0	50,3 ± 7,3	62,7 ± 7,0
LOV 2	565,2 ± 122,6	166,2 ± 39,2***	119,4 ± 11,3	79,2 ± 5,3*	75,8 ± 3,2	48,5 ± 2,6**	43,8 ± 1,2	34,5 ± 1,8
LOV 5	517,5 ± 89,2	231,4 ± 49,5**	127,0 ± 8,0	80,3 ± 5,6**	78,6 ± 9,1	42,6 ± 3,6***	36,8 ± 1,3	31,7 ± 3,6
LOV 10	307,1 ± 49,1	161,0 ± 21,3*	95,4 ± 8,7	60,3 ± 5,2*	67,4 ± 7,3	38,4 ± 7,9*	27,6 ± 2,2	33,1 ± 4,9
LOV 20	172,3 ± 29,9	118,9 ± 16,5	120,8 ± 4,0	72,7 ± 5,7*	82,0 ± 4,1	51,0 ± 5,2**	62,4 ± 8,8	38,1 ± 1,8*

Os valores representam a média ± E.P.M. para os níveis de TG, COL, AST e ASLT dos animais diabéticos no início do tratamento (dia 0) e após cinco dias de tratamento (dia 5). Foram utilizados os grupos de 6 animais. * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001 redução significativa em comparação à média dos parâmetros no dia 0 (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

6.2 Efeito do tratamento preventivo com lovastatina sobre a diabetes induzida por aloxano

O grupo pré-tratado por cinco dias com lovastatina na dose de 2 mg/Kg antes da indução do diabetes mostrou redução significativa ($p < 0,05$) da glicemia da ordem de 45% ($170,7 \pm 28,2$) em comparação ao grupo tratado somente com veículo ($312,4 \pm 22,0$). (**Tabela 3 e Figura 4**).

Resultados semelhantes foram encontrados em relação aos triglicerídeos, onde a lovastatina reduziu significativamente em 45% ($p < 0,01$) os níveis ($252,8 \pm 46,7$) em comparação ao grupo controle ($461,3 \pm 34,7$). (**Tabela 4**).

Sobre o colesterol a lovastatina também provocou redução significativa de 41,3% ($p < 0,01$) nos níveis ($112,4 \pm 9,7$) em comparação ao controle ($191,6 \pm 18,9$). (**Tabela 4**).

Sobre os níveis de AST e ALT ($34,4 \pm 1,3$; $44,2 \pm 1,1$; respectivamente) o tratamento preventivo com lovastatina não mostrou redução significativa em comparação ao grupo controle ($35,7 \pm 2,1$; $43,9$) (**Tabela 4**).

Tabela 3 - Efeito do tratamento preventivo com Lovastatina (LOV) sobre a glicemia no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.

Grupo	Glicemia (mg/dL)
Normal	72,5 ± 14,8
Veículo	312,4 ± 22,0
LOV 2 mg/kg	170,7 ± 28,2*

Os valores representam a média ± E.P.M. para a glicemia dos animais após 48 h da administração de aloxano (40 mg/Kg, i.v.). Os animais foram previamente tratados durante cinco dias com veículo (água destilada) ou lovastatina (2 mg/Kg), ambos por gavagem antes da indução do diabetes. Foram utilizados grupos de 6 animais. * $p < 0,05$ redução significativa em comparação ao grupo tratado com veículo (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

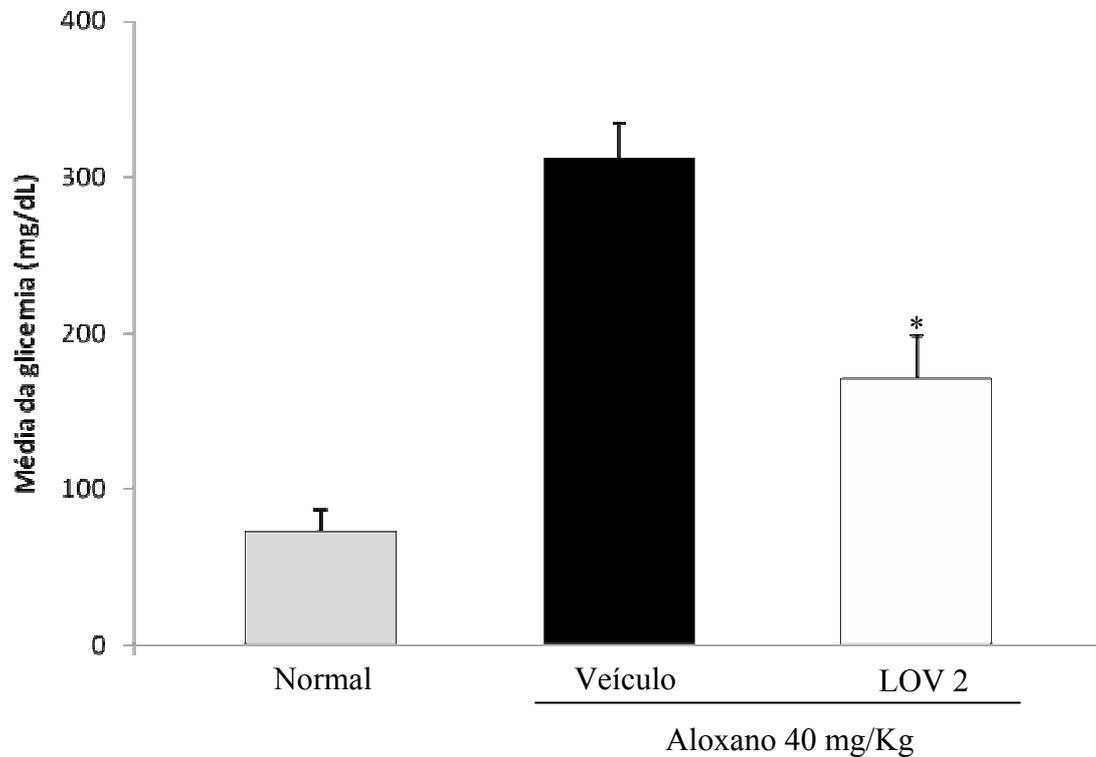


Figura 4 - Efeito do tratamento preventivo com lovastatina sobre a glicemia

Os animais ($n = 6$) foram previamente tratados por 5 dias com veículo (água destilada) ou lovastatina 2 mg/Kg por gavagem. Em seguida receberam uma única dose de aloxano monoidado (40 mg/Kg, i.v.). Após 48 h o sangue foi coletado para a análise. * indica diferença significativa em comparação ao grupo tratado somente com veículo ($p < 0,05$). (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

Tabela 4 - Efeito do tratamento preventivo com Lovastatina (LOV) sobre os níveis de triglicérides (TG), colesterol total (COL), AST e ALT no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.

Grupo	TG (mg/dL)	COL (mg/dL)	AST (mg/dL)	ALT(mg/dL)
Normal	83,0 ± 10,6	65,7 ± 16,2	30,8 ± 4,1	22,9 ± 6,5
Veículo	461,3 ± 34,7	191,6 ± 18,9	35,7 ± 2,1	43,9 ± 1,4
LOV 2	252,8 ± 46,7**	112,4 ± 9,7**	34,4 ± 1,3	44,2 ± 1,1

Os valores representam a média ± E.P.M. para os níveis de TG, COL, AST e ALT dos animais após 48 h da administração de aloxano (40 mg/Kg, i.v.). Os animais foram previamente tratados durante cinco dias com veículo (água destilada) ou lovastatina (2 mg/kg), ambos por gavagem antes da indução do diabetes. Foram utilizados grupos de 6 animais. ** indica diferença significativa em comparação ao grupo tratado somente com veículo ($p < 0,01$). (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

6.3 Efeito do tratamento sub-crônico com lovastatina sobre a diabetes induzida por aloxano

Para avaliar o efeito do tratamento sub-crônico os animais diabéticos foram tratados durante 23 dias com veículo (água destilada) ou lovastatina nas doses de 2 e 5 mg/Kg. Os tratamentos foram iniciados 48 h após a administração de aloxano. Todos os parâmetros bioquímicos em estudo foram analisados no dia 0 (após 48 h da indução do diabetes), no dia 5 e no dia 23 (último dia de tratamento).

Sobre a glicemia, a lovastatina provocou redução significativa ($p < 0,001$) durante o período de tratamento com ambas as doses, 2 mg/Kg ($309,2 \pm 30,5$; $172,0 \pm 38,0$ e $176,7 \pm 33,1$) e 5 mg/Kg ($346,3 \pm 21,5$; $226,7 \pm 25,8$ e $125,8 \pm 20,4$) em comparação ao grupo tratado com veículo ($373,0 \pm 47,5$; $347,5 \pm 26,2$ e $338,6 \pm 25,3$). (**Tabela 5 e Figura 5**).

Sobre os níveis de triglicerídeos, a lovastatina também mostrou redução significativa ($p < 0,001$) durante o período de tratamento com as doses de 2 mg/Kg ($373,1 \pm 97,6$; $67,0 \pm 48,4$ e $179,8 \pm 40,3$) e 5 mg/Kg ($606,9 \pm 102,0$; $195,2 \pm 30,5$ e $56,1 \pm 10,0$) em comparação ao grupo controle ($573,0 \pm 27,2$; $485,7 \pm 54,2$ e $459,7 \pm 33,7$). (**Tabela 6**)

Sobre os níveis de colesterol, a lovastatina mostrou redução significativa ($p < 0,01$) durante o período de tratamento com as doses de 2 mg/Kg ($108,0 \pm 8,4$; $74,0 \pm 5,8$ e $73,4 \pm 5,1$) e 5 mg/Kg ($117,5 \pm 7,2$; $75,9 \pm 4,9$ e $74,3 \pm 6,4$) em comparação ao grupo tratado com veículo ($130,0 \pm 6,3$; $121,8 \pm 4,9$ e $116,4 \pm 7,8$). (**Tabela 6**).

O tratamento sub-crônico com lovastatina nas doses de 2 e 5 mg/Kg reduziu significativamente os níveis de AST ($29,4 \pm 1,1$ e $32,5 \pm 5,5$ UI/L, respectivamente) no 23º dia de tratamento em comparação ao grupo controle ($69,6 \pm 2,4$) (**Tabela 6**). O mesmo resultado não foi constatado sobre os níveis de ALT, onde as doses de 2 e 5 mg/Kg ($31,7 \pm 3,8$ e $33,8 \pm 3,8$) não mostraram diferença significativa em relação ao grupo tratado com água destilada no final do experimento ($30,2 \pm 2,9$) (**Tabela 6**).

Tabela 5 - Efeito do tratamento sub-crônico com Lovastatina (LOV) sobre a glicemia no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos

Grupo	Glicemia dia 0 (mg/dL)	Glicemia dia 5 (mg/dL)	Glicemia dia 23 (mg/dL)
Normal	76,4 ± 12,6	74,9 ± 16,8	79,6 ± 15,7
Veículo	373,0 ± 47,5	347,5 ± 26,2	338,6 ± 25,3
LOV 2 mg/Kg	309,2 ± 30,5	172,0 ± 38,0 *	176,7 ± 33,1 * *
LOV 5 mg/Kg	346,3 ± 21,5	226,7 ± 25,8 *	125,8 ± 20,4 * *

Os valores representam a média ± E.P.M. para a glicemia dos animais no início do tratamento (dia 0), com cinco dias de tratamento (dia 5) e no final do experimento (dia 23). O diabetes foi previamente induzido através da administração de aloxano (40 mg/Kg, i.v.). Foram utilizados grupos de 6 animais cada. * p < 0,05 e ** p < 0,001 em comparação ao grupo tratado somente com veículo (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

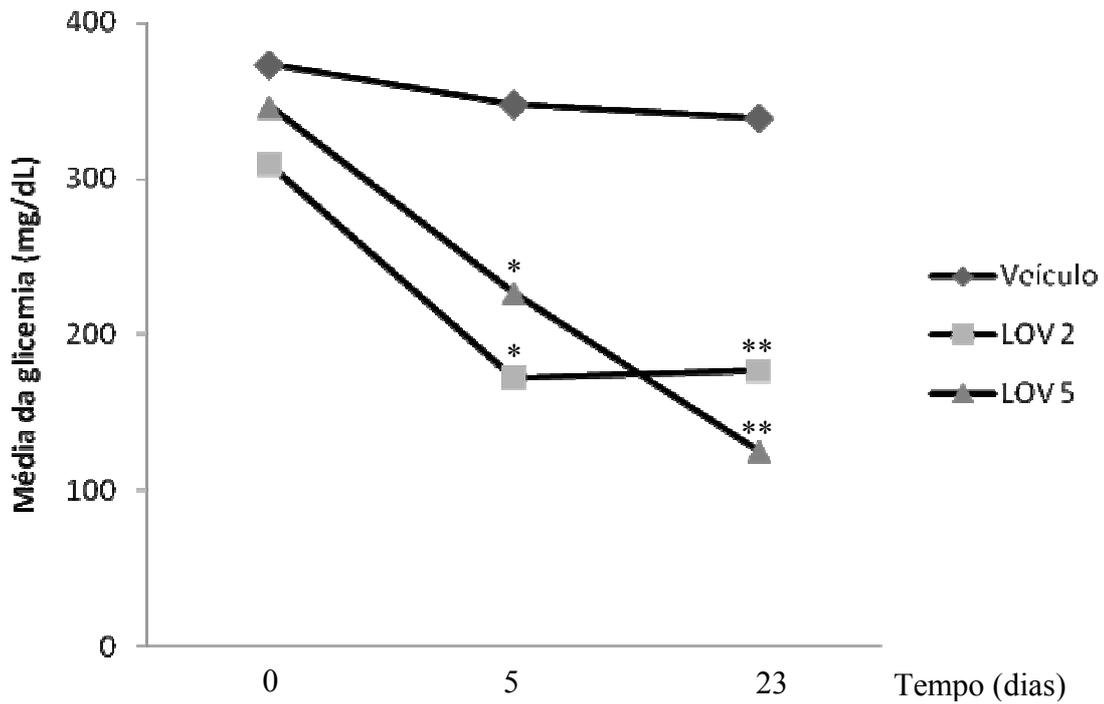


Figura 5 - Efeito do tratamento sub-crônico com lovastatina sobre os níveis de glicemia (mg/dL)

O diabetes foi induzido com uma injeção única de aloxano (40 mg/Kg) por via intravenosa. Após 48 h os animais diabéticos foram selecionados e iniciou-se o tratamento com lovastatina nas doses de 2 e 5 mg/Kg. A glicemia foi analisada no quinto e no vigésimo terceiro dia. * e ** indicam diferença significativa em comparação ao grupo tratado somente com veículo ($p < 0,05$ e $0,001$, respectivamente).

Tabela 6. Efeito do tratamento sub-crônico com Lovastatina (LOV) sobre os níveis de triglicérides (TG), colesterol total (COL), AST e ALT no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.

Grupo	TG (mg/dL)			COL (mg/dL)			AST (UI/L)			ALT (UI/L)		
	Dia 0	Dia 5	Dia 23	Dia 0	Dia 5	Dia 23	Dia 0	Dia 5	Dia 23	Dia 0	Dia 5	Dia 23
Normal	88,5 ± 23,1	92,7 ± 16,2	90,2 ± 17,8	68,4 ± 14,5	70,6 ± 14,2	72,4 ± 9,8	35,1 ± 3,3	37,6 ± 4,7	38,6 ± 5,1	25,9 ± 3,8	24,5 ± 6,1	32,3 ± 4,5
Veículo	573,0 ± 27,2	485,7 ± 54,2	459,7 ± 33,7	130,0 ± 6,3	121,8 ± 4,9	116,4 ± 7,8	41,8 ± 1,8	40,9 ± 6,6	69,6 ± 2,4	42,9 ± 4,0	31,1 ± 2,4	30,2 ± 2,9
LOV 2	373,1 ± 97,6	67,0 ± 48,4*	179,8 ± 40,3*	108,0 ± 8,4	74,0 ± 5,8*	73,4 ± 5,1*	30,4 ± 2,3	38,4 ± 3,4	29,4 ± 1,1*	25,3 ± 1,1*	28,8 ± 2,3	31,7 ± 3,8
LOV 5	606,9 ± 102,0	195,2 ± 30,5*	56,1 ± 10,0*	117,5 ± 7,2	75,9 ± 4,9*	74,3 ± 6,4*	38,7 ± 7,7	46,7 ± 3,5	32,5 ± 5,5*	29,7 ± 2,1*	35,9 ± 3,2	33,8 ± 3,8

Os valores representam a média ± E.P.M. para os níveis de TG, COL, AST e ASLT dos animais diabéticos no início do tratamento (dia 0), após cinco dias de tratamento (dia 5) e no final do experimento (dia 23). Foram utilizada dos grupos de 6 animais. * p < 0,01 redução significativa em comparação à média do grupo tratado somente com o veículo. (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

6.4 Efeito do tratamento associado com glibenclamida

A lovastatina na dose de 2 mg/Kg, a glibenclamida 5 mg/Kg e a associação LOV 2 + GLIB 5 reduziram significativamente ($p < 0,001$) a hiperglicemia no quinto dia de tratamento na ordem de 64,5% ($441,6 \pm 30,7$; $156,7 \pm 19,4$), 78,9% ($382,0 \pm 42,5$; $80,3 \pm 8,3$) e 77% ($427,1 \pm 20,0$; $95,5 \pm 17,1$), respectivamente. O grupo tratado somente com veículo manteve a hiperglicemia ($351,8 \pm 30,3$; $415,7 \pm 10,8$). (**Tabela 7 e Figura 6**).

O mesmo efeito não foi encontrado quando as doses foram reduzidas. Apesar de ter ocorrido redução da glicemia esta não foi estatisticamente significativa: lovastatina 0,5 mg/Kg 24,1% ($328,5 \pm 60,4$; $249,1 \pm 42,7$), glibenclamida 2 mg/Kg 29,4 % ($443,8 \pm 18,6$; $313,3 \pm 33,4$) e LOV 0,5 + GLIB 2 21,6% ($358,8 \pm 45,1$; $281,1 \pm 32,5$). (**Tabela 8 e Figura 7**).

Tabela 7 - Efeito do tratamento associado com glibenclamida no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos

Grupo	Glicemia dia 0 (mg/dL)	Glicemia dia 5 (mg/dL)
Veículo	351,8 ± 30,3	415,7 ± 10,8
LOV 2 mg/Kg	441,6 ± 30,7	156,7 ± 19,4***
Glibenclamida 5 mg/Kg	382,0 ± 42,5	80,3 ± 8,3***
LOV 2 + GLIB 5	427,1 ± 20,0	95,5 ± 17,1***

Os valores representam a média ± E.P.M. para a glicemia dos animais diabéticos no início do tratamento (dia 0) e após cinco dias de tratamento (dia 5). Foram utilizados grupos de 6 animais. *** p < 0,001 redução significativa em comparação à média da glicemia no dia 0 (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

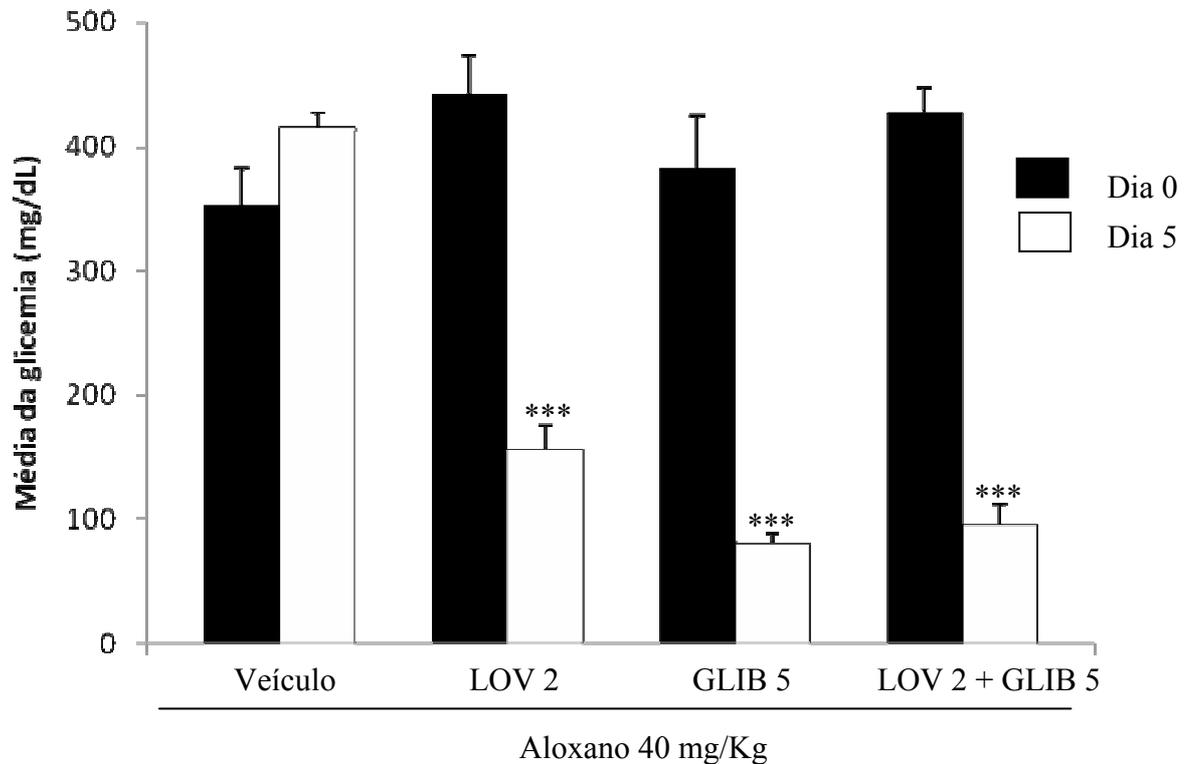


Figura 6 - Efeito do tratamento associado de lovastatina com glibenclamida sobre a glicemia

O diabetes foi induzido com uma única injeção de aloxano (40 mg/Kg) por via intravenosa. Após 48 h, os animais diabéticos foram selecionados para o estudo e iniciou-se (dia 0) o tratamento com veículo (água destilada) lovastatina (2 mg/Kg), glibenclamida (5 mg/Kg) e a associação de LOV + GLIB, sendo que a sulfoniluréia foi administrada 45 min antes da estatina. O tratamento durou 5 dias. Neste último dia (dia 5) o sangue foi coletado novamente para a análise do efeito dos tratamentos sobre a glicemia. *** indica diferença significativa em comparação à média da glicemia no dia 0 ($p < 0,001$). (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

Tabela 8 - Efeito do tratamento associado com glibenclamida (dose reduzida) no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos

Grupo	Glicemia dia 0 (mg/dL)	Glicemia dia 5 (mg/dL)
Veículo	351,8 ± 30,3	415,7 ± 10,8
LOV 0,5 mg/Kg	328,5 ± 60,4	249,1 ± 42,7
Glibenclamida 2 mg/Kg	443,8 ± 18,6	313,3 ± 33,4
LOV 0,5 + GLIB 2	358,8 ± 45,1	281,1 ± 32,5

Os valores representam a média ± E.P.M. para a glicemia dos animais diabéticos no início do tratamento (dia 0) e após cinco dias de tratamento (dia 5). Foram utilizados grupos de 6 animais. Não houve diferença significativa (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

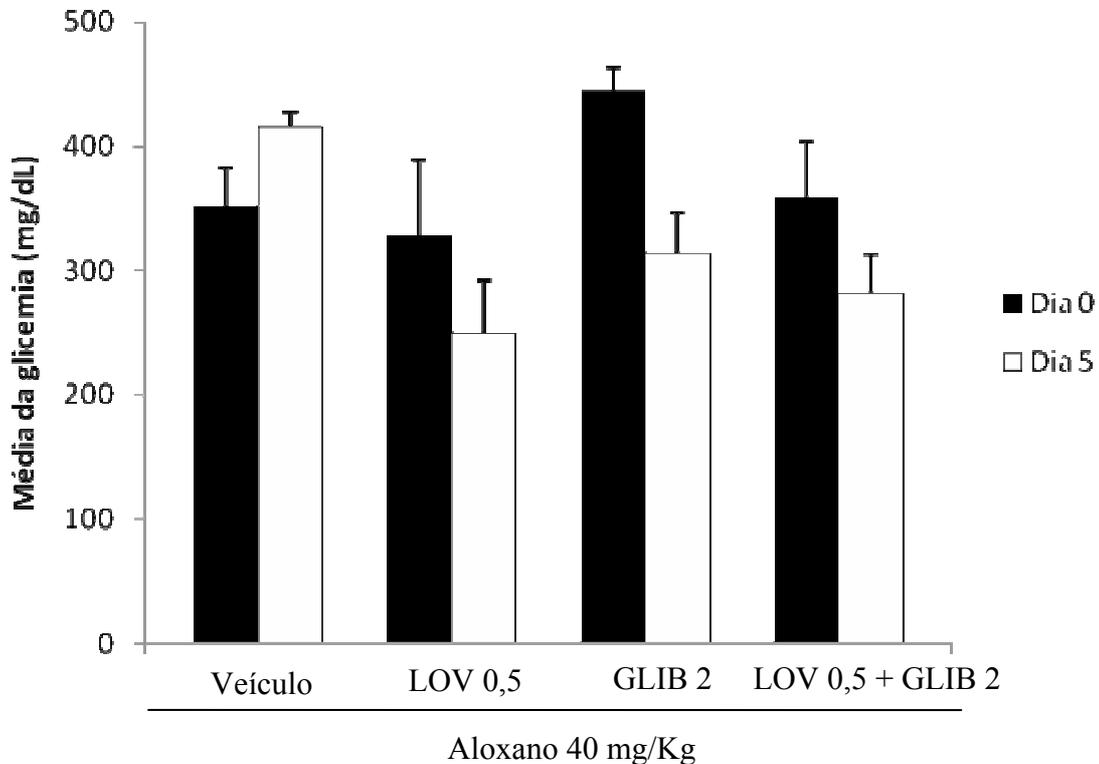


Figura 7 - Efeito do tratamento associado de lovastatina com glibenclamida (doses reduzidas) sobre a glicemia

O diabetes foi induzido com uma única injeção de aloxano (40 mg/Kg) por via intravenosa. Após 48 h, os animais diabéticos foram selecionados para o estudo e iniciou-se (dia 0) o tratamento com veículo (água destilada) lovastatina (0,5 mg/Kg), glibenclamida (2 mg/Kg) e a associação de LOV + GLIB, sendo que a sulfoniluréia foi administrada 45 min antes da estatina. O tratamento durou 5 dias. Neste último dia (dia 5) o sangue foi coletado novamente para a análise do efeito dos tratamentos sobre a glicemia. Não houve diferença significativa em comparação à média da glicemia no dia 0 (ANOVA e Newman-Keul).

6.5 Efeito do tratamento associado com metformina

A lovastatina na dose de 2 mg/Kg, a metformina 50 mg/Kg e a associação LOV 2 + METF 50 reduziram significativamente ($p < 0,001$) a hiperglicemia no quinto dia de tratamento na ordem de 64,5% ($441,6 \pm 30,7$; $156,7 \pm 19,4$), 71,7% ($440,2 \pm 17,9$; $124,2 \pm 28,0$) e 75,8% ($410,8 \pm 12,3$; $99,4 \pm 19,4$), respectivamente. O grupo tratado somente com veículo manteve a hiperglicemia ($351,8 \pm 30,3$; $415,7 \pm 10,8$). (**Tabela 9 e Figura 8**).

O mesmo efeito não foi encontrado quando as doses foram reduzidas: lovastatina 0,5 mg/Kg 24,1% ($328,5 \pm 60,4$; $249,1 \pm 42,7$), metformina 20 mg/Kg 30% ($331,2 \pm 57,6$; $231,6 \pm 60,8$) e LOV 0,5 + METF 20 12,7% ($254,5 \pm 24,1$; $222,0 \pm 15,1$). (**Tabela 10 e Figura 9**).

Tabela 9 - Efeito do tratamento associado com metformina no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos

Grupo	Glicemia dia 0 (mg/dL)	Glicemia dia 5 (mg/dL)
Veículo	351,8 ± 30,3	415,7 ± 10,8
LOV 2 mg/Kg	441,6 ± 30,7	156,7 ± 19,4***
Metformina 50 mg/Kg	440,2 ± 17,9	124,2 ± 28,0***
LOV 2 + METF 50	410,8 ± 12,3	99,4 ± 19,4***

Os valores representam a média ± E.P.M. para a glicemia dos animais diabéticos no início do tratamento (dia 0) e após cinco dias de tratamento (dia 5). Foram utilizados grupos de 6 animais. *** $p < 0,001$ redução significativa em comparação à média da glicemia no dia 0 (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

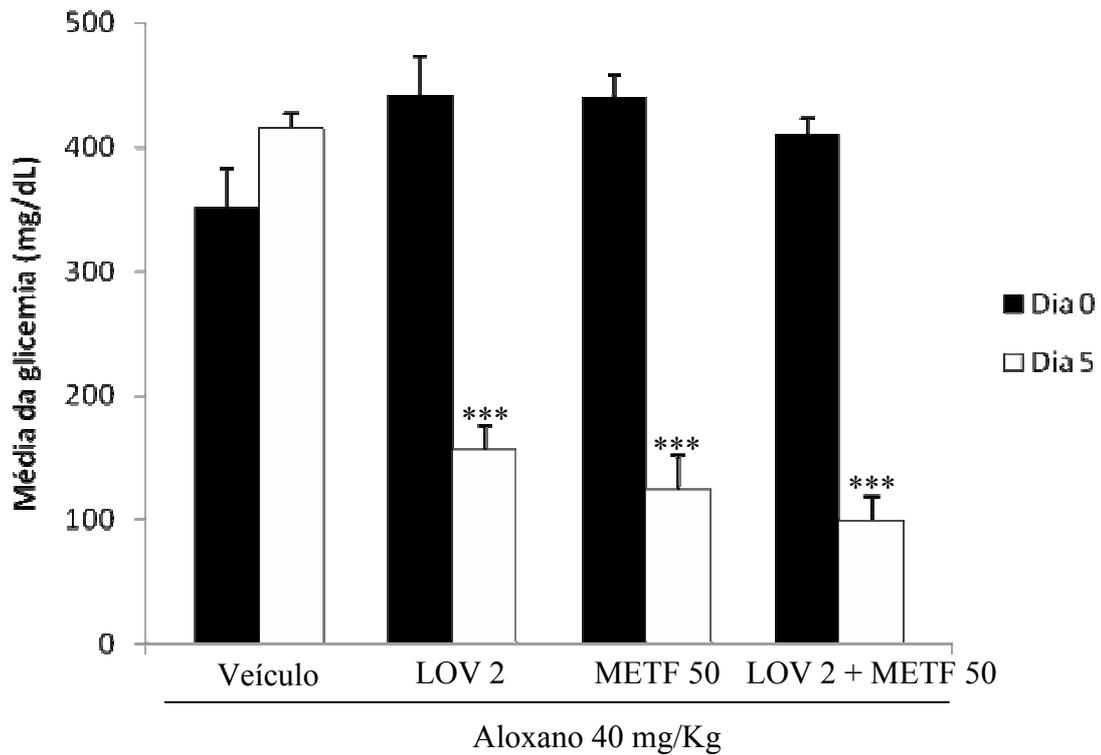


Figura 8 - Efeito do tratamento associado de lovastatina com metformina sobre a glicemia

O diabetes foi induzido com uma única injeção de aloxano (40 mg/Kg) por via intravenosa. Após 48 h, os animais diabéticos foram selecionados para o estudo e iniciou-se (dia 0) o tratamento com veículo (água destilada) lovastatina (2 mg/Kg), metformina (50 mg/Kg) e a associação de LOV + METF, sendo que a biguanida foi administrada 45 min antes da estatina. O tratamento durou 5 dias. Neste último dia (dia 5) o sangue foi coletado novamente para a análise do efeito dos tratamentos sobre a glicemia. *** indica diferença significativa em comparação à média da glicemia no dia 0 ($p < 0,001$). (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

Tabela 10 - Efeito do tratamento associado com metformina (dose reduzida) no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos

Grupo	Glicemia dia 0 (mg/dL)	Glicemia dia 5 (mg/dL)
Veículo	351,8 ± 30,3	415,7 ± 10,8
LOV 0,5 mg/Kg	328,5 ± 60,4	249,1 ± 42,7
Metformina 20 mg/Kg	331,2 ± 57,6	231,6 ± 60,8
LOV 0,5 + METF 20	254,5 ± 24,1	222,0 ± 15,1

Os valores representam a média ± E.P.M. para a glicemia dos animais diabéticos no início do tratamento (dia 0) e após cinco dias de tratamento (dia 5). Foram utilizados grupos de 6 animais cada. Não houve diferença significativa (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

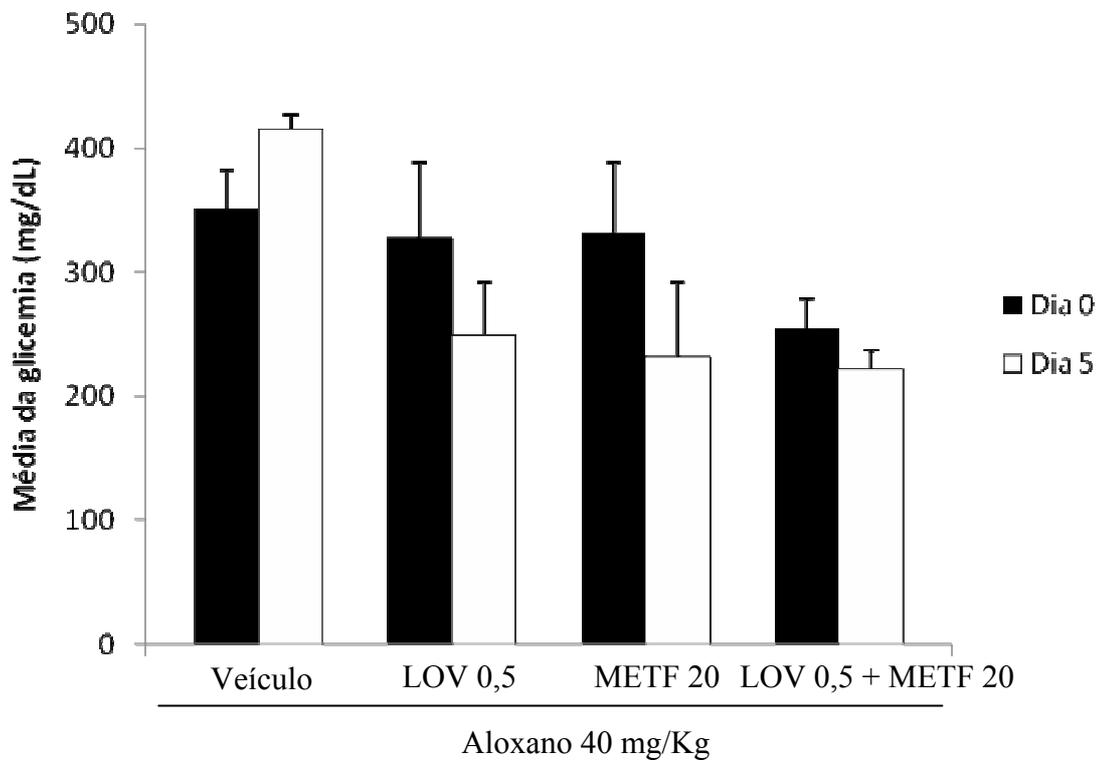


Figura 9 - Efeito do tratamento associado de lovastatina com metformina (doses reduzidas) sobre a glicemia

O diabetes foi induzido com uma única injeção de aloxano (40 mg/Kg) por via intravenosa. Após 48 h, os animais diabéticos foram selecionados para o estudo e iniciou-se (dia 0) o tratamento com veículo (água destilada) lovastatina (0,5 mg/Kg), metformina (20 mg/Kg) e a associação de LOV + METF, sendo que a biguanida foi administrada 45 min antes da estatina. O tratamento durou 5 dias. Neste último dia (dia 5) o sangue foi coletado novamente para a análise do efeito dos tratamentos sobre a glicemia. Não houve diferença significativa em comparação à média da glicemia no dia 0 (ANOVA e Newman-Keul).

6.6 Efeito do tratamento com lovastatina sobre o peso dos animais

O ganho ou redução ponderal para cada esquema de tratamento foi registrado. Para o tratamento curativo o peso, em gramas, foi medido no dia 0 (início do tratamento) e dia 5 (fim do experimento). Tanto o grupo controle como todas as doses de lovastatina testadas, com exceção da dose de 10 mg/Kg, demonstraram redução no peso (**Tabela 11**).

Para o tratamento preventivo o peso dos animais foi registrado antes do início dos tratamentos com veículo (água destilada) e lovastatina (2 mg/Kg, v.o.), após 5 dias de tratamento (dia da indução do diabetes com aloxano) e após 48 horas da injeção de aloxano 40 mg/Kg i.v. (fim do experimento). O grupo tratado com veículo mostrou uma leve redução enquanto o grupo teste mostrou ganho ponderal (**Tabela 12**).

Durante o tratamento sub-crônico o peso foi medido no dia 0 (início do tratamento, dia 5 e dia 23 (fim do experimento). Todos os grupos mostraram acentuada redução de peso (**Tabela 13**).

Tabela 11 - Efeito do tratamento curativo com lovastatina (LOV) sobre a média do peso do (g) dos animais no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos

Grupo	Dia 0	Dia 5	Variação
Veículo	287,4	239,1	Redução 16,8%
LOV 0,5 mg/Kg	227,7	206,7	Redução 9,2%
LOV 2 mg/Kg	202,7	175,2	Redução 13,5%
LOV 5 mg/Kg	169,2	144,8	Redução 14,4%
LOV 10 mg/Kg	290,7	306	Ganho 5%
LOV 20 mg/Kg	284,8	270	Redução 5,2%

Os valores representam a média do peso, em gramas, dos animais diabéticos durante o período de tratamento com veículo (água destilada) e lovastatina nas doses indicadas.

Tabela 12 - Efeito do tratamento preventivo com lovastatina (LOV) sobre a média do peso (g) dos animais no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos.

Grupo	Antes do tratamento	Cinco dias de tratamento	Após 48h da indução do diabetes
Veículo	206	212	198
LOV 2 mg/Kg	186	194	196

Os valores representam a média do peso, em gramas, dos animais diabéticos durante o período de tratamento com veículo (água destilada) e lovastatina nas doses indicadas.

Tabela 13 - Efeito do tratamento sub-crônico com lovastatina (LOV) sobre a média do peso (g) dos animais no modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos

Grupo	Dia 0	Dia 5	Dia 23	Varição
Veículo	204	162	153	Redução 25%
LOV 2 mg/Kg	204	176,5	169,6	Redução 16,8%
LOV 5 mg/Kg	217	185,8	164,3	Redução 24,3%

Os valores representam a média do peso, em gramas, dos animais diabéticos durante o período de tratamento com veículo (água destilada) e lovastatina nas doses indicadas.

6.7 Efeito do tratamento com lovastatina sobre a mortalidade dos animais

Para avaliar um possível efeito protetor da lovastatina sobre o aspecto geral de qualidade de vida dos animais tratados foi feito o levantamento de percentual de mortalidade dos animais diabéticos utilizados neste trabalho.

Comprovou-se que tanto no tratamento curativo, preventivo e sub-crônico os animais que foram tratados com lovastatina em todas as doses apresentaram um melhor perfil de sobrevivência. Dados mostrados nas tabelas (**Tabelas 14, 15 e 16**).

Tabela 14 - Percentual de mortalidade dos ratos diabéticos durante o tratamento curativo com lovastatina

Grupo	Número de animais no início	Número de animais no final	Mortalidade
Controle diabético	30	15	50%
LOV 0,5 mg/Kg	20	12	30%
LOV 2 mg/Kg	20	15	20%
LOV 5 mg/Kg	20	14	30%
LOV 10 mg/Kg	20	13	35%
LOV 20 mg/Kg	20	12	30%

Os valores representam o somatório do número de animais utilizados neste trabalho com seus respectivos percentuais de mortalidade após 5 dias de tratamento com veículo, água destilada, e lovastatina nas doses citadas.

Tabela 15 - Percentual de mortalidade dos ratos diabéticos durante o tratamento preventivo com lovastatina

Grupo	Número de animais antes da indução do diabetes	Número de animais após 48 h da indução com aloxano	Mortalidade
Controle diabético	10	6	40%
LOV 2 mg/Kg	10	10	--

Os valores representam o somatório do número de animais utilizados neste trabalho com seus respectivos percentuais de mortalidade após 48 horas da administração de aloxano tendo sido estes animais tratados previamente por 5 dias com veículo, água destilada, e lovastatina na dose citada.

Tabela 16 - Percentual de mortalidade dos ratos diabéticos durante o tratamento sub-crônico com lovastatina

Grupo	Número de animais no dia 0	Número de animais no dia 5	Número de animais no dia 23	Mortalidade
Controle diabético	10	5	4	60%
LOV 2 mg/Kg	10	8	6	40%
LOV 5 mg/Kg	10	8	7	30%

Os valores representam o somatório do número de animais utilizados neste trabalho com seus respectivos percentuais de mortalidade após 23 dias de tratamento com veículo, água destilada, e lovastatina nas doses citadas.

6.8 Efeito da lovastatina sobre o edema de pata induzido por carragenina

A lovastatina reduziu de modo significativo ($p < 0,05$) o edema de pata, expresso em mL, induzido por carragenina 1% com as doses de 2, 5 e 10 mg/Kg na 2^a h ($1,33 \pm 0,12$; $1,03 \pm 0,19$; $1,19 \pm 0,21$; respectivamente), na 3^a h ($2,30 \pm 0,17$; $1,76 \pm 0,23$; $1,93 \pm 0,21$) e 4^a h ($2,44 \pm 0,12$; $1,85 \pm 0,21$; $2,06 \pm 0,35$) em comparação ao grupo tratado somente com veículo, água destilada ($1,83 \pm 0,21$; $2,86 \pm 0,24$ e $3,26 \pm 0,13$). A indometacina, utilizada como droga de referência, também reduziu ($p < 0,01$) o edema nas horas citadas ($0,96 \pm 0,09$; $1,28 \pm 0,23$ e $1,36 \pm 0,17$). (Tabela 17 e Figura 10).

Tabela 17 - Efeito da lovastatina sobre o edema de pata (mL) induzido por carragenina

Tempo (Horas)	Veículo	Indometacina 20 mg/Kg	LOV 2 mg/Kg	LOV 5 mg/Kg	LOV 10 mg/Kg
1	0,75 ± 0,08	0,63 ± 0,08	0,81 ± 0,06	0,64 ± 0,13	0,78 ± 0,28
2	1,83 ± 0,21	0,96 ± 0,09**	1,33 ± 0,12*	1,03 ± 0,19**	1,19 ± 0,21*
3	2,86 ± 0,24	1,28 ± 0,23***	2,30 ± 0,17*	1,76 ± 0,23**	1,93 ± 0,21*
4	3,26 ± 0,13	1,36 ± 0,17***	2,44 ± 0,12**	1,85 ± 0,21***	2,06 ± 0,35***
24	0,81 ± 0,25	0,20 ± 0,07*	0,38 ± 0,09	0,39 ± 0,10	0,74 ± 0,07

Os valores representam a média ± E.P.M. para o volume do edema, expresso em mL, medido através do uso de pletismógrafo. O edema foi medido na 1^a, 2^a, 3^a, 4^a e 24^a hora após a administração subplantar de 0,1 ml de carragenina 1%. Foram utilizados grupos de 8 animais cada. * p < 0,05; ** p < 0,01 e *** p < 0,001 em comparação ao grupo tratado somente com veículo (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

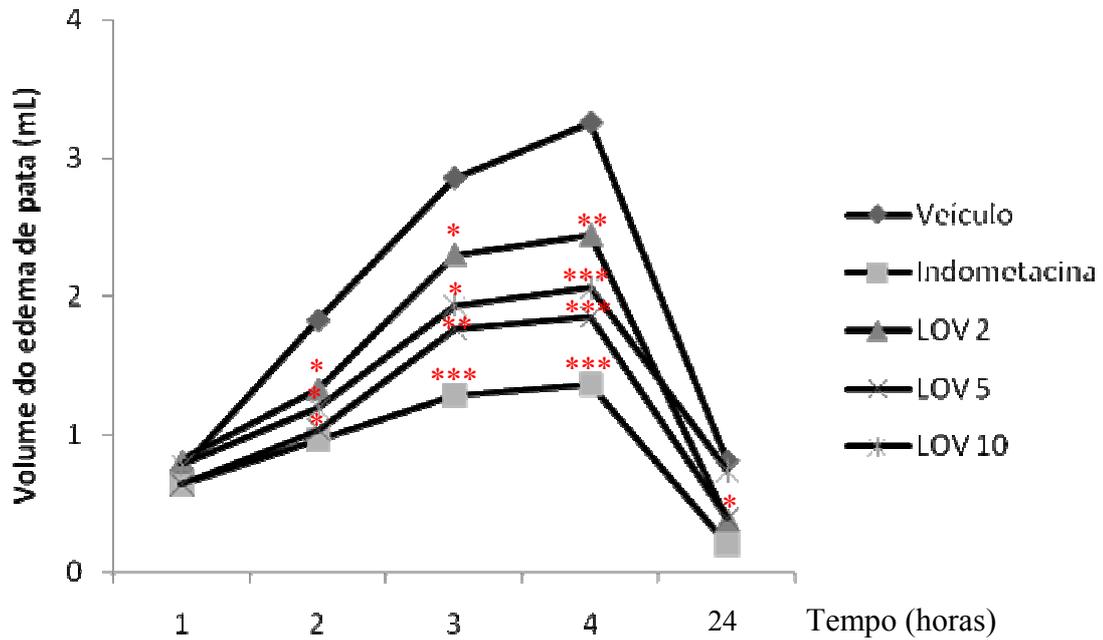


Figura 10 - Efeito da lovastatina sobre edema de pata induzido por carragenina

Efeito da lovastatina nas doses de 2; 5 e 10 mg/Kg e da indometacina na dose de 20 mg/kg, todos por via oral. Mediu-se o edema na 1^a, 2^a, 3^a, 4^a e 24^a após a administração subplantar de 0,1ml de carragenina 1%. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ em comparação ao grupo tratado somente com veículo (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

6.9 Efeito da lovastatina sobre a peritonite induzida por carragenina

A lovastatina reduziu significativamente ($p < 0,001$) a migração de neutrófilos induzida pela carragenina 1% nas doses testadas de 2 mg/Kg ($16,0 \pm 2,1 \times 10^3/\text{mm}^3$), 5 mg/Kg ($16,1 \pm 2,0 \times 10^3/\text{mm}^3$) e 10 mg/Kg ($15,5 \pm 2,3 \times 10^3/\text{mm}^3$) em comparação ao grupo controle ($58,7 \pm 10,5 \times 10^3/\text{mm}^3$). A dexametasona utilizada como padrão apresentou resultado semelhante ($14,3 \pm 3,5 \times 10^3/\text{mm}^3$). (**Tabela 18 e Figura 11**).

Tabela 18 - Efeito da lovastatina sobre a peritonite induzida por carragenina em camundongos

Grupo	Média (n° de neutrófilos X 10³/mm³)
Veículo	58,7 ± 10,5
Dexametasona 1 mg/Kg	14,3 ± 3,5***
LOV 2 mg/Kg	16,0 ± 2,1***
LOV 5 mg/Kg	16,1 ± 2,0***
LOV 10 mg/ Kg	15,5 ± 2,3***

Os valores representam a média ± E.P.M. para o número de neutrófilos (n° de neutrófilos X 10³/mm³) no exsudato peritoneal dos animais após administração intraperitoneal de 0,25 mL de carragenina 1%. Foram utilizados grupos de 8 animais cada. *** p < 0,001 em comparação ao grupo tratado somente com veículo (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

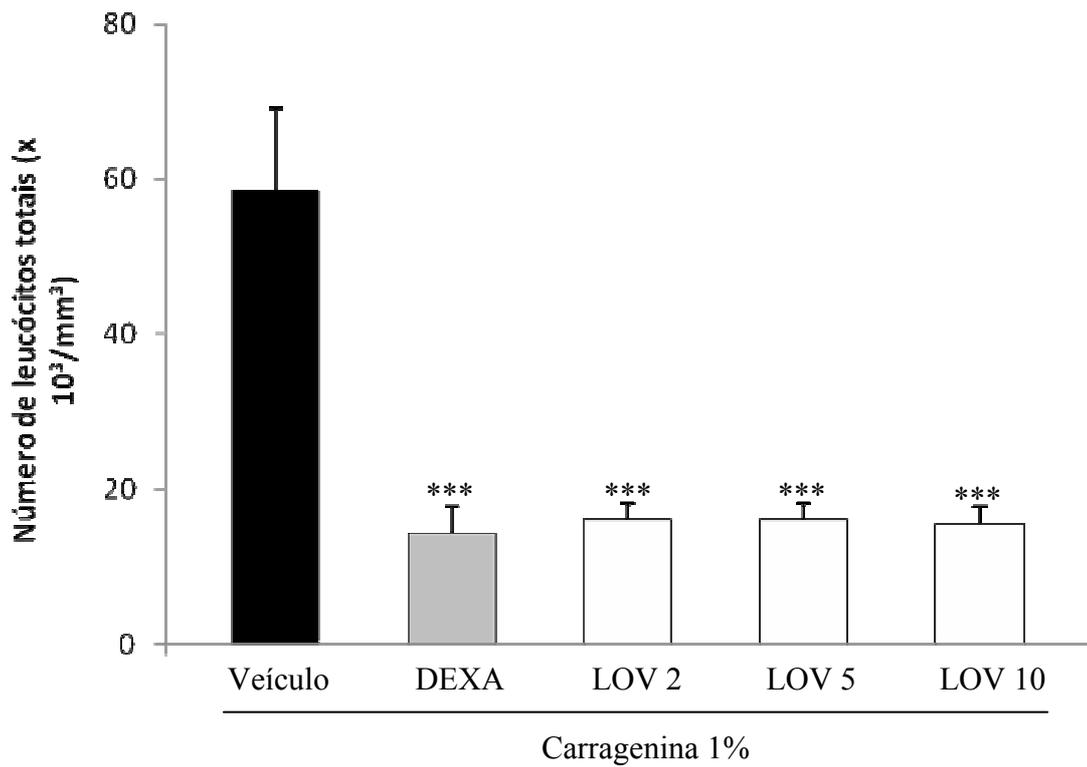


Figura 11 - Efeito da lovastatina sobre a peritonite induzida por carragenina 1%

Os animais, camundongos Swiss $n = 8$, foram pré-tratados com veículo (água destilada), dexametasona (Dexa 1mg/Kg i.p.) e lovastatina (2; 5 e 10 mg/Kg, v.o.) e em seguida receberam uma injeção intraperitoneal de 0,25 mL de carragenina 1%. Os símbolos e barras verticais indicam as médias \pm erro padrão das médias do número de neutrófilos. *** $p < 0,001$ diferença significativa em relação ao grupo tratado com veículo (ANOVA e Teste de Newman-Keul).

7 DISCUSSÃO

As estatinas reduzem a concentração de mediadores inflamatórios circulantes, diminuem a disfunção endotelial e reduzem os triglicerídeos (WHITE, 1999; HAFFNER, 2001). Cada um desses efeitos associados das estatinas tem sido relacionado a uma diminuição da resistência à insulina e podem permitir que estas drogas previnam ou retardem o desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 (HAFFNER, 2001).

A insulina utiliza duas vias principais de sinalização: (1) a via do fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K)-AKT/proteinoquinase B (PKB), a qual é responsável pela maioria das ações metabólicas do hormônio; (2) e a via da Ras/proteinoquinase ativada por mitógeno (MAPK), a qual regula a expressão de alguns genes e coopera com a via do PI3K no controle do crescimento e diferenciação celular (AVRUCH *et al.*, 1998).

A via PI3K/AKT se inicia quando ocorre autofosforilação do receptor de insulina (IR) após a ligação do hormônio. Em seguida ocorre fosforilação de várias proteínas intracelulares inclusive do substrato do receptor de insulina (IRSs; IRS-1 e IRS-2 são os mais importantes). Após fosforilação do resíduo de tirosina IRS-1 e IRS-2 ligam-se e ativam PI3K (SAAD *et al.*, 1993; SALTIEL; PESSIN, 2002). Em seguida ocorre ativação de uma serina-treonina quinase, que por sua vez estimula o transporte de glicose no músculo e tecido adiposo, a síntese de glicogênio hepático e muscular, além de aumentar a lipogênese (BROZINICK; BIRNBAUM, 1998).

Um importante mecanismo que pode contribuir para desregulação da via de sinalização da insulina inclui a fosforilação da serina 307 (ser³⁰⁷) nas proteínas IRS através da ação das quinases c-jun N-terminal (JNK) (LEE *et al.*, 2003). A JNK faz parte da família da MAPK (WESTON; LAMBRIGHT; DAVIS, 2002; DAVIS, 1999) e pode ser ativada por TNF- α (HIROSUMI *et al.*, 2002) e IL-1 β (NIKULINA *et al.*, 2003). O resíduo ser³⁰⁷ está localizado próximo do domínio de ligação fosfotirosina no IRS-1 e a fosforilação deste resíduo inibe a interação do domínio de ligação com seu substrato após ativação de IR, causando resistência à insulina (AGUIRRE *et al.*, 2002).

Dessa forma, a via JNK deve servir como um feedback negativo durante a estimulação com insulina (LEE *et al.*, 2003; AGUIRRE *et al.*, 2002). Tem sido proposto que um aumento

da ativação do NF- κ B desenvolve um papel importante na patogênese da resistência à insulina (SCHOELSON; LEE; YUAN., 2003; CAI *et al.*, 2005; ITAUI *et al.*, 2002; GHOSH; KARIN, 2002).

Trabalhos recentes têm mostrado que as estatinas devem exercer efeitos adicionais relevantes sobre a resistência à insulina em modelos animais (SUZUKI *et al.*, 2005; WONG *et al.*, 2006) e em humanos (OKADA *et al.*, 2005; HUPTAS *et al.*, 2006). Contudo os mecanismos moleculares envolvidos na melhora da sensibilidade ainda não estão bem estabelecidos.

Lovastatina demonstrou exercer propriedades de sensibilização à insulina quando utilizada no tratamento de ratos alimentados com dieta hipercalórica. A melhora foi caracterizada através do aumento da captação da glicose no teste de tolerância. O aumento da sensibilidade à insulina está associado a estimulação da via de sinalização IRS-1/PI3K/AKT no fígado e músculo dos animais tratados. Além disso, a droga mostrou redução paralela da via inflamatória JNK/IKK/I κ B/NF- κ B, relacionada com a resistência à insulina (LALLI *et al.*, 2008).

Estudos prévios demonstram que a terapia com estatinas retardou a necessidade de utilização de insulina por pacientes diabéticos tipo 2 em até 10 meses (YEE *et al.*, 2004).

Lalli *et al.* (2008) demonstraram que a melhora na sensibilidade à insulina associada ao tratamento com lovastatina está relacionada com a estimulação da tirosina-fosforilação de IR e redução paralela da serino-fosforilação do receptor da insulina. Este último processo, como já citado, está relacionado com desregulação da ativação de IR pela insulina (ROSENZWEIG *et al.*, 2002; ARAÚJO *et al.*, 2005).

O fígado é o principal local de ação das estatinas. Contudo, o hepatócito também é fonte para os mediadores pró-inflamatórios e uma diminuição na expressão destes pode ser um importante mecanismo de ação antiinflamatória destas drogas (ARNAUD *et al.*, 2005).

A síntese do colesterol é um processo complexo que leva à formação de derivados isoprenóides, tais como o farnesilpirofosfato e o geranylgeranylpirofosfato, que servem como moléculas de adesão lipídica para uma variedade de proteínas sinalizadoras através da

isoprenilação pós-tradução, tais como guanina-3-fosfatase (GTPase), proteína de adesão Ras e suas proteínas relacionadas Rho, Rac, Rab, Rap e Ral (LIAO, 2005). A isoprenilação é um passo fundamental para a associação destas pequenas proteínas à membrana plasmática e é essencial para que estas apresentem atividade biológica. Ras está associada com proliferação celular, Rac com geração e espécies reativas do oxigênio e a Rho com ativação de vias pró-inflamatórias (CROSS *et al.*, 1995; LIAO, 2005).

É importante ressaltar que Rho e Rac podem induzir atividade de NF- κ B a partir de um mecanismo que induz fosforilação de I κ B com consequente acúmulo nuclear de NF- κ B (MONTANER *et al.*, 1999; PERONA *et al.*, 1997). Estatinas também demonstram limitar o acúmulo de NF- κ B e sua ligação com DNA, talvez devido ao aumento da expressão de I κ B (WAGNER *et al.*, 2002; DICHTL *et al.*, 2003). Além disso, as estatinas reduzem a expressão de c-jun indicando atividade sobre JNK (DICHTL *et al.*, 2003).

Os benefícios da terapia hipolipidêmica sobre a prevenção de eventos cardiovasculares já estão claros, especialmente no que diz respeito à utilização de estatinas (BROWN *et al.*, 1990; GOTTO *et al.*, 1999). Tais benefícios têm sido principalmente atribuídos à redução dos níveis de LDL-colesterol circulantes (CRISBY *et al.*, 2001). Ensaios clínicos nos quais as estatinas foram utilizadas na prevenção secundária mostraram que a proteção cardiovascular é ainda maior em indivíduos com diabetes tipo 2 (HEART PROTECTION STUDY COLLABORATIVE GROUP, 2002).

É possível que parte dos benefícios cardiovasculares das estatinas para indivíduos diabéticos seja devido sua influência sobre a sensibilidade à insulina, além do próprio efeito hipolipidêmico clássico (PAOLISSO *et al.*, 2000).

Dentre os efeitos pleiotrópicos das estatinas as propriedades antiinflamatórias tem sido as mais estudadas e sua proteção cardiovascular tem sido atribuídas a essas ações (JIALAL *et al.*, 2001). Uma redução nos níveis de adipocitocinas, tal como TNF- α , induzida pelas estatinas pode ser um mecanismo da melhoria do metabolismo da glicose em indivíduos insulino-resistentes (BULCÃO *et al.*, 2007).

A hipótese das estatinas desempenharem um papel na sensibilidade à insulina em pacientes resistentes tem sido pobremente investigada. Tal hipótese foi levantada baseada nos

achados de estudos epidemiológicos que mostram uma incidência diminuída de diabetes em indivíduos sobre terapia com inibidores da HMG-CoA redutase (FREEMAN *et al.*, 2001).

As ações imunomodulatórias na inflamação, a mobilização de células tronco, a diminuição da resistência à insulina, entre outras ações, tem ampliado consideravelmente as prescrições para estes fármacos, como no caso da insuficiência cardíaca (LIAO, 2004), nos transplantes (MEHRA; RAVAL, 2004) ou na artrite reumatóide (LEUNG *et al.*, 2003). Além disso, cresce o conceito de que praticamente todos os clássicos fatores de risco podem ter seu impacto na doença aterosclerótica atenuado pelo uso das estatinas, como tem sido mostrado em estudos de hipertensão arterial (SEVER; DAHLOF; POULTER, 2003) ou diabetes (COLHOUN; BETTERIDGE; DURRINGTON, 2004).

No presente trabalho mostrou-se que os tratamentos realizados com lovastatina exerceram tanto um efeito protetor nos animais, ou seja, diminuíram a mortalidade após a administração do aloxano, como também exerceram efeito hipoglicemiante. Durante os tratamentos curativos as doses testadas (0,5; 2; 5; 10 e 20 mg/Kg) demonstraram reduzir significativamente a hiperglicemia no quinto dia de tratamento, com exceção da dose de 0,5 mg/Kg, que demonstrou redução, contudo não estatisticamente significativa. Os níveis de triglicerídeos e colesterol apresentaram resultados semelhantes.

A redução da glicemia após a instalação da desordem metabólica foi marcante. As doses de 2, 5, 10 e 20 mg/Kg provocaram um diminuição da hiperglicemia induzida pelo aloxano após 5 dias consecutivos de tratamento. Tal redução foi estatisticamente significativa e variou de 41 a 45%. O controle diabético manteve a hiperglicemia, o que está de acordo com a ação do aloxano. A destruição seletiva das células β -pancreáticas através da produção de espécies reativas do oxigênio é uma das características dos animais tratados com aloxano. Vários trabalhos mostram que a hiperglicemia e hiperlipidemia são comuns no diabetes induzido por aloxano (SZKUDELSKI *et al.*, 2001). A atividade da SOD está aumentada em ratos diabéticos por aloxano, potencializando dessa forma o aparecimento do estresse oxidativo.

Estudos recentes mostram a capacidade das estatinas em diminuir o estresse oxidativo por inibição da SOD (LANDMESSER; BAHLMANN; MUELLER, 2005) e por inibição de adipocitocinas que também facilitam o surgimento de espécies reativas de oxigênio. Tais dados contribuem para um entendimento dos efeitos hipoglicemiantes, além do próprio

benefício causado pelos efeitos hipolipidêmicos nos animais diabéticos tratados com lovastatina neste trabalho. O percentual de sobrevivência para os animais tratados com a estatina exemplifica o potencial protetor desse fármaco sobre o estado metabólico dos ratos diabéticos.

Novamente, observando os resultados do tratamento curativo com lovastatina não foi possível identificar características de dose-dependência. As doses testadas (0,5, 2, 5, 10 e 20 mg/Kg) reduziram de maneira semelhante a glicemia, os triglicerídeos e o colesterol dos ratos diabéticos após 5 dias da administração do aloxano. Porém, a dose de 0,5 mg/Kg mesmo mostrando redução, esta não foi significativa, sendo possivelmente essa dose o ponto de corte para os efeitos metabólicos benéficos da lovastatina.

Como as doses utilizadas no tratamento curativo não demonstraram características de dose dependência, para o tratamento preventivo foi escolhida a dose de 2 mg/Kg. Após o tratamento de cinco dias de animais saudáveis com lovastatina o diabetes foi induzido com aloxano, como já descrito. O tratamento mostrou prevenir o aparecimento da hiperglicemia, além de diminuir marcadamente a mortalidade dos animais quando comparados com o grupo que foi tratado somente com veículo. Os triglicerídeos e colesterol total também mostraram que a droga tem a capacidade de prevenir o aumento dos níveis plasmáticos.

O número de células β intactas e funcionantes nas ilhotas pancreáticas é uma característica decisiva no desenvolvimento do diabetes mellitus. A renovação das células β no diabetes tem sido largamente estudada. Vários produtos naturais e sintéticos promovem regeneração de células β pancreáticas após administração de aloxano (GHOSH; SURYAWANSHI, 2001). A possibilidade de a lovastatina exercer seu efeito preventivo sobre a hiperglicemia, hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia através de uma proteção celular e facilitação da renovação das células β não pode ser descartada.

Foi realizado um tratamento sub-crônico (23 dias) para avaliar se os resultados encontrados com os tratamentos curativos e preventivos tinham a capacidade de se manter estáveis durante um período maior de indução de diabetes nos animais. Mostrou-se que as doses de 2 e 5 mg/Kg mantiveram a redução da glicemia, triglicerídeos e colesterol durante os 23 dias de tratamento, enquanto que no grupo tratado somente com veículo os níveis de tais parâmetros continuaram elevados durante todo tratamento. A mortalidade foi marcadamente menor nos grupos tratados com lovastatina.

Da mesma maneira, os efeitos benéficos da lovastatina durante um tratamento mais prolongado dos animais diabéticos podem estar associados a vários fatores tais como, diminuição do estresse oxidativo, aumento da sensibilidade à insulina pelos fatores já citados anteriormente, renovação e regeneração da massa de células β . Por outro lado, mesmo os animais tratados com lovastatina (2 e 5 mg/Kg) apresentando um quadro geral (mortalidade, peso, parâmetros bioquímicos) bem mais animador que o grupo controle diabético, só foi possível realizar um tratamento por 23 dias, um vez que o estado do grupo diabético era preocupante: alta mortalidade, redução drástica de peso e hiperglicemia severa.

O tratamento associado com glibenclamida e metformina foi realizado na tentativa de estimar um possível mecanismo de ação hipoglicemiante. Contudo, não houve potencialização dos efeitos das drogas sozinhas, mostrando que a atividade de redução da glicemia da lovastatina de ver independente do bloqueio dos canais K^+_{ATP} -dependentes e da indução da glicogênese.

Vários trabalhos têm demonstrado um efeito de sensibilização de receptores e de modulação das vias de sinalização na diminuição da resistência à insulina relacionados com os efeitos hipoglicemiantes e hipolipidêmicos das estatinas (LALLI *et al.*, 2008). Os resultados encontrados para os esquemas de tratamento realizados neste trabalho podem ter permitido essa diminuição na resistência insulina. Contudo, a via exata pela qual tal efeito é apresentado necessita ser elucidada.

O peso dos animais foi monitorado regularmente em cada esquema de tratamento. O diabetes induzido por aloxano é caracterizado por perda drástica de peso, fato observado nos nossos resultados. Com o tratamento curativo somente a dose de 10 mg/Kg de lovastatina mostrou ganho de peso. Durante o tratamento sub-crônico as duas doses testadas mesmo reduzindo a mortalidade não impediram a drástica redução ponderal. Durante o tratamento preventivo a dose de 2 mg/Kg protegeu os animais do emagrecimento causado pelo aloxano.

Estudos em animais e ensaios clínicos apontam para uma hepatotoxicidade relacionada à utilização crônica de estatinas. Por esta razão o uso destas drogas deve ser acompanhado de monitoração das enzimas hepáticas (AST e ALT) (TOLMAN, 2002). Os cofatores que modulam a hepatotoxicidade das estatinas ainda não estão totalmente elucidados (CHALASANI; TEAL; HALL, 2005; PASTERNAK *et al.*, 2002). Em um ensaio clínico com

2045 pacientes tratados com lovastatina nas doses de 40 a 80 mg/Kg/dia, 3,1% destes pacientes mostraram um aumento de até 3 vezes o permitido da atividade das aminotransferases. Entre eles, 3 utilizavam etanol, 2 usavam acetaminofeno e 4 acetaminofeno e etanol (TOLMAN, 2002). Contudo, hepatite induzida por estatinas parece ser uma reação idiossincrásica rara (WIERZBICKI; CROOK, 1999).

Sobre os níveis de AST e ALT os diferentes esquemas de tratamento mostraram resultados interessantes. O tratamento curativo mostrou redução significativa da AST com variações de redução de 36 a 45%. Contudo, sobre a ALT somente a dose de 20 mg/Kg provocou redução significativa. O tratamento preventivo não demonstrou prevenir o aumento de AST e AST induzido por aloxano. O tratamento sub-crônico também só mostrou efeito sobre a AST.

Ensaio recentes mostraram que as estatinas reduzem o risco de eventos cardiovasculares até mesmo na ausência de redução significativa dos níveis de colesterol (DOWNS *et al.*, 1998; RIDKER *et al.*, 1998) sugerindo que os benefícios da terapia com estatinas deveriam também ser creditados a suas ações sobre fatores não lipídicos envolvidos na inflamação e fibroproliferação, uma importante característica da aterosclerose (VAUGH *et al.*, 1996; HARZ *et al.*, 2000). Como consequência, as propriedades antiinflamatórias das estatinas devem ser um fator adicional no controle da aterosclerose (DIOMEDE *et al.*, 2001).

As estatinas inibem a conversão de HMG-CoA em ácido mevalônico e também aumentam a síntese de esteróis bioativos e de metabólitos não-esteróis derivados da via de síntese do colesterol (ROSS *et al.*, 1993; DIOMEDE *et al.*, 2001).

Uma redução no influxo glomerular de macrófagos nos néfron de ratos tratados com lovastatina foi demonstrada (PARK *et al.*, 1998), sugerindo que a inibição da síntese de mevalonato pode influenciar no recrutamento de leucócitos no local da infecção. Foi demonstrado que os produtos derivados do mevalonato participam da regulação da resposta inflamatória, uma vez que *in vivo* a lovastatina reduziu a habilidade dos leucócitos de migrarem para o local da infecção por causar inibição da produção de quimiocinas (DIOMEDE *et al.*, 1999; ROMANO *et al.*, 2000; FRUSCELLA *et al.*, 2000).

Foi demonstrado que a lovastatina reduziu significativamente a migração leucocitária no local da inflamação, efeito este relacionado à inibição da HMG-CoA redutase hepática. Tal efeito antiinflamatório foi devido a inibição da síntese de derivados isoprenóides do mevalonato (DIOMEDE *et al.*, 2001). O mesmo grupo demonstrou que a inibição no recrutamento de leucócitos durante a inflamação observada com a lovastatina foi paralela a uma redução dose dependente dos níveis de IL-6, MCP-1 e RANTES.

As células da parede vascular produzem grandes quantidades de citocinas, especialmente IL-6, a qual responde por ser o maior modulador da expressão gênica de fase aguda durante a inflamação, além de desempenhar um papel estimulatório no processo através da amplificação do acúmulo de leucócitos (ROMANO *et al.*, 2000; SIRANI *et al.*, 1989; MANTOVANI *et al.*, 1997).

Evidências crescentes sugerem que as estatinas são capazes de infraregular a transcrição de IL-6 e MCP-1 como uma consequência da interferência nas proteínas de ligação da via de transdução do NF- κ B (ROMANO *et al.*, 2000). De fato, o NF- κ B é o fator chave que promove a transcrição de ambas citocinas (KITA *et al.*, 1980).

Waehre *et al.* (2003) demonstraram que o tratamento com estatinas por seis meses diminuiu os níveis das quimiocinas MIP-1 α , MIP-1 β e IL-8 devido à inibição de sua expressão gênica, além também de diminuir a expressão dos receptores para tais quimiocinas.

Uma questão importante é elucidar se os efeitos pleiotrópicos das estatinas são secundários à redução dos níveis de colesterol ou se aparecem devido outros mecanismos. As estatinas inibem a síntese de colesterol, mas também reduzem a produção de produtos não-esteroidais derivados do mevalonato (WAEHRE *et al.*, 2003). Estudos *in vitro* indicam que a supressão destes mediadores é responsável pelo menos em parte pelos efeitos antiinflamatórios das estatinas (ETO *et al.*, 2002; YOSHIDA; SAWADA; ISHII, 2001).

Da mesma forma, o NF- κ B, necessário para transcrição de várias citocinas e quimiocinas inflamatórias, é suprimido pelas estatinas, pelo menos em parte de maneira independente das propriedades redutoras do colesterol (GUIJARRO; BLANCO-COLIO; ORTEGO, 1998).

Evidências crescentes sugerem que a ação antiinflamatória das estatinas além de ser um efeito paralelo interessante também pode representar um benefício clínico para pacientes com doenças cardiovasculares e diabetes (WAEHRE *et al.*, 2003).

A terapia com estatinas diminuiu os níveis de marcadores inflamatórios no plasma, tais como hsCRP (*high-sensitivity C-Reactive Protein*) e TNF- α . Esse efeito pode ser relacionado à habilidade das estatinas inibirem a isoprenilação e ativação de membros da família Rho, bloqueando dessa forma a transdução de vias pró-inflamatórias (NAKAGAMI *et al.*, 2003). As estatinas ainda são capazes de aumentar a atividade da superóxido dismutase (SOD) (LANDMESSER; BAHLMANN; MUELLER, 2005).

Evidências do efeito antiinflamatório das estatinas são mostradas através da inibição da expressão de ciclooxigenase-2 (COX-2) em modelo de aterosclerose em coelhos e em cultura de células de músculo liso estimuladas por citocinas (HERNANDEZ-PRESA *et al.*, 2002). Além disso, as estatinas inibem a resposta inflamatória em diferentes modelos animais de doença autoimune, tais como artrite por adjuvante completo de Freund e encefalomielite experimental (AKTAS *et al.*, 2003; LEUNG *et al.*, 2003; BARSANTE *et al.*, 2005). Independente dos efeitos hipolipidêmicos as estatinas aumentam a expressão da óxido nítrico sintase endotelial (NOS_e), efeito este que proporciona as ações benéficas protetoras contra doenças cardiovasculares e complicações vasculares relacionadas ao diabetes mellitus (MARON *et al.*, 2000; WAGNER *et al.*, 2000).

As estatinas inibem a liberação de citocinas pró-inflamatórias e produção de prostanóides, possivelmente devido inibição do NF- κ B. Essa hipótese é apoiada pelos achados que mostram que a produção de COX-2 e citocinas é largamente dependente da via de transcrição regulada por NF- κ B (LI *et al.*, 2002; WU, 2005).

As carrageninas são polissacarídeos altamente sulfatados derivados de sementes vermelhas (*Rhodophyceae*), predominantemente dos gêneros *Chondrus*, *Eucheuma*, *Gigartina* e *Iridaea*. A reatividade biológica da carragenina deve ser atribuída à ativação de uma via da imunidade inata, devido a sua estrutura única que contém o componente imunogênico gal (α -1,3)gal (GALILI, 2005). A atividade imune da carragenina ativa a cascata que induz a translocação de NF- κ B e aumento da secreção de IL-8 por causar fosforilação de I κ B, complexo que mantém a fator nuclear inativado (BHATTACHARYYA *et al.*, 2008).

Os resultados encontrados mostram que a lovastatina nas doses de 2, 5 e 10 mg/Kg foi capaz de reduzir significativamente tanto a migração de leucócitos como o edema de pata induzidos por carragenina. Tais resultados estão de acordo com os achados da literatura que mostram que as ações antiinflamatórias das estatinas são os efeitos pleiotrópicos mais estudados.

A inibição no acúmulo de NF- κ B e consequente inibição da expressão de seus produtos relacionados com a via inflamatória, além de uma diminuição na expressão de citocinas pró-inflamatórias, tais como TNF- α , IL-6, IL-1 β e moléculas de adesão MCP-1, ICAM-1, RANTES podem estar envolvidas no efeito antiinflamatório encontrado para a lovastatina nos modelos utilizados.

Sobre o modelo da peritonite foi demonstrado nesse trabalho que a lovastatina reduziu a migração leucocitária de maneira tão significativa quanto a dexametasona, utilizada como droga de referência. A dexametasona atua por causar alteração na síntese de uma série de fatores de transcrição nuclear através de sua ligação a receptores intracelulares. Seu efeito antiinflamatório decorre em parte da inibição dos fatores de transcrição AP-1 e NF- κ B, que estão envolvidos na desrepressão de genes para COX-2, várias citocinas, fatores de adesão e NOSi.

Trabalhos recentes demonstram que a lovastatina foi capaz de inibir a via inflamatória IKK/I κ B/NF- κ B, associando dessa forma a estatina com a diminuição da produção de proteínas pró-inflamatórias. Tais dados ratificam o efeito antiinflamatório da lovastatina no modelo da peritonite realizado neste trabalho (LALLI *et al.*, 2008).

Por outro lado, não foi possível verificar efeito de dose-dependência no tratamento realizado com a droga-teste no modelo de peritonite. Todas as doses (2, 5 e 10 mg/Kg) reduziram a migração de neutrófilos de maneira idêntica na quarta hora após a injeção intraperitoneal de carragenina. Tal efeito demonstra que independente da dose ocorrerá dessensibilização de alguma via pró-inflamatória. Contudo, novos experimentos precisam ser realizados para a identificação de uma dose de corte, ou seja, uma dose que não apresente nenhum efeito, além da própria via inflamatória envolvida.

Sobre o edema de pata induzido por carragenina a lovastatina mostrou um comportamento semelhante. O pico do edema foi encontrado na quarta hora após a administração subplantar de carragenina. A indometacina, droga usada como referência, como esperado reduziu de maneira significativa o edema na 2^a, 3^a, 4^a e 24^a horas validando dessa forma a estrutura do experimento. A indometacina, potente inibidor de ciclooxigenase, exerce seu efeito antiinflamatório por causar inibição gradual da COX-2 reduzindo dessa forma a produção de prostanóides. Contudo, outras ações podem estar envolvidas no seu efeito antiinflamatório, tais como diminuição da lesão tecidual mediada por radicais livres de oxigênio, que têm sua eliminação aumentada, e possível inibição de NF-κB (MAKAROV *et al.*, 2000).

Podemos observar no presente trabalho que a lovastatina nas doses de 2, 5 e 10 mg/Kg reduziu de maneira significativa o edema na 2^a, 3^a e 4^a horas após a administração da carragenina. Mesmo não havendo diferença significativa entre os grupos que caracterizasse dose-dependência foi encontrado que a dose de 2 mg/Kg apresentou neste modelo o efeito menos eficaz, enquanto as doses de 5 e 10 mg/Kg mostraram redução bem mais marcante na quarta hora ($p < 0,001$) de maneira semelhante à indometaina.

Tal efeito pleiotrópico da lovastatina é ratificado pela inibição de NF-κB e possíveis outros fatores de transcrição como o AP-1 (GUIJARRO; BLANCO-COLIO; ORTEGO, 1998) além de uma possível redução do estresse oxidativo com diminuição de radicais livres e lesão tecidual (LANDMESSER; BAHLMANN; MUELLER, 2005).

Os resultados apresentados no presente trabalho corroboram na sua grande maioria para um efeito protetor da lovastatina sobre os eventos inflamatórios e de resistência à insulina presentes no diabetes mellitus. Contudo, novos estudos precisam ser realizados para avaliar se tais efeitos da lovastatina estão relacionados à sua inibição clássica da produção do colesterol ou são derivados realmente de ações paralelas. Novos ensaios também são necessários para avaliar os mecanismos moleculares de ação da droga-teste e elucidar de forma satisfatória seu efeito hipoglicemiante. O efeito sobre os marcadores hepáticos também deve ser estudado com mais atenção, no intuito de definir a real ação das estatinas sobre o fígado.

8 CONCLUSÕES

- Lovastatina possui efeito hipoglicemiante, hipotrigliceridêmico e hipocolesterolêmico nas doses de 2; 5; 10 e 20 mg/Kg, mas não na dose de 0,5 mg/Kg.
- Não foi demonstrada característica de dose-dependência entre as doses testadas.
- Os efeitos metabólicos da lovastatina foram eficientes nos três esquemas de tratamento: curativo, preventivo e sub-crônico.
- O tratamento associado da lovastatina com glibenclamida e lovastatina com metformina não potencializou o efeito de ambas as drogas sozinhas.
- Existe a possibilidade de a lovastatina ter exercido os efeitos sobre a glicemia devido uma diminuição da resistência à insulina e sensibilização de seus receptores.
- A lovastatina exerce um efeito protetor generalizado diminuindo a mortalidade dos animais que foram tratados com aloxano.
- No modelo da peritonite induzida por carragenina as doses de 2, 5 e 10 mg/Kg reduziram a migração de leucócitos de maneira semelhante à dexametasona 1 mg/Kg utilizada como droga de referência.
- No modelo do edema de pata por carragenina a lovastatina nas doses de 2, 5 e 10 mg/kg reduziu a formação do edema na 2^a, 3^a e 4^a horas.
- Lovastatina mostrou um marcante efeito antiinflamatório melhorando o estado geral dos animais em experimentação, tanto nos estudos de inflamação como nos estudos de diabetes.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, V.; WERNER, E. D.; GIRAUD, J.; LEE, Y.H.; SHOELSON, S. E.; WHITE, M. F. Phosphorylation of Ser307 in insulin receptor substrate-1 blocks interactions with the insulin receptor and inhibits insulin action. **J. Biol. Chem.**, v. 277, p. 1531-1537, 2002.
- AKTAS, O.; WAICZIES, S.; SMORODCHENKO, A.; DORR, J.; SEEGER, B.; PROZOROVSKI, T. Treatment of relapsing paralysis in experimental encephalomyelitis by targeting Th1 cells through atorvastatin. **J. Exp. Med.**, v. 197, p. 725-733, 2003.
- ALBA-LOUREIRO, T. C.; MUNHOZ, C. D.; MARTINS, J. O.; CERCHIARO, G. A.; SCAVONE, C.; CURTI, R.; SANNOMIYA, P. Neutrophil function and metabolism in individuals with diabetes mellitus. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 40, p. 1037-1044, 2007.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Gestational diabetes mellitus. Clinical Practice Recommendations. **Diabetes Care**, v. 24, p. 77-79, 2001.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Tests of glycemia in diabetes. **Diabetes Care**, v. 24, p. 80-82, 2001.
- ANJOS-VALOTTA, E. A.; MARTINS, J. O.; OLIVEIRA, M. A.; CASOLARI, D. A.; BRITTO, L. R.; TOSTES, R. C.; FORTES, Z. B.; SANNOMIYA, P. Inhibition of tumor necrosis factor-alpha-induced intercellular adhesion molecule-1 expression in diabetic rats: role of insulin. **Inflamm. Res.**, v. 55, p. 16-22, 2006.
- ARAÚJO, E. P.; SOUZA, T.; GASPARETTI, A. L.; UENO, M.; BOSCHERO, A. C. Short-term in vivo inhibition of insulin receptor substrate-1 expression leads to insulin resistance, hyperinsulinemia, and increased adiposity. **Endocrinology**, v. 146, p. 1428-1437, 2005.
- ARNAUD, C.; BRAUNERSREUTHER, V.; MACH, F. Toward immunomodulatory and anti-inflammatory properties of statins. **Trends Cardiovasc. Med.**, v. 15, p. 202-206, 2005.
- ARNAUD, C.; BURGER, F.; STEFFENS, S.; VEILLARD, N. R.; NGUYEN, T.H.; TRONO, D. Statins reduce interleukin-6-induced C-reactive protein in human hepatocytes: new evidence for direct antiinflammatory effects of statins. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 25, p. 1231-1236, 2005.
- AVRUCH, J. Insulin signal transduction through protein kinase cascades. **Mol. Cell Biochem.**, v. 182, p. 31-48, 1998.
- BARSANTE, M. M.; ROFFE, E.; YOKORO, C. M.; TAFURI, W. L.; SOUZA, D. G.; PINHO, V. Anti-inflammatory and analgesic effects of atorvastatin in a rat model of adjuvant-induced arthritis. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 516, p. 282-289, 2005.
- BHATTACHARYYA, S.; GILL, R.; CHEN, M.L.; ZHANG, F.; LINHARDT, R.J.; DUDEJA, P.K.; TOBACMAN, J.K. Toll-like receptor 4 mediates induction of Bcl10-NFκB-IL-8 inflammatory pathway by carrageenan in human intestinal epithelial cells, **J. Biol. Chem.**, v. 283, p. 10550-10558, 2008.

BOIKE, A. M.; HALL, J. O. A practical guide for examining and treating the diabetic foot. **Cleve. Clin. J. Med.**, v. 69, n. 4, p. 342-348, 2002.

BOLZAN, A. D.; BIANCHI, M. S. Genotoxicity of streptozotocin. **Mutat. Res.**, v. 512, p. 121-134, 2002.

BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; BASTARD, J. P.; JAUDON, M. C.; DELLATRE, J. Consequences of diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. **Diabetes Metab.**, v. 26, n. 3, p. 163-176, 2000.

BONO, V. H. Review of mechanism of action studies of the nitrosureas. **Cancer Treat. Rep.**, v. 60, p.699-702, 1976.

BROWN, G.; ALBERS, J. J.; FISHER, L. D.; SCHAEFER, S. M.; LIN, J. T.; KAPLAN, C. Regression of coronary artery disease as a result of intensive lipidlowering therapy in men with high levels of apolipoprotein B. **N. Engl J. Med.**, v. 323, p. 1289-1298, 1990.

BROWNLEE M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. **Nature**. Dec 13;414(6865):813-20, 2001.

BROZINICK, J. R.; BIRNBAUM, M. J. Insulin, but not contraction, activates Akt/PKB in isolated rat skeletal muscle. **J. Biol. Chem.**, v. 273, p. 14679-14682, 1998.

BULCÃO, C.; GIUFFRIDA, F. M. A.; RIBEIRO-FILHO, F. F.; FERREIRA, S. R. G. Are the beneficial cardiovascular effects of simvastatin and metformin also associated with a hormone-dependent mechanism improving insulin sensitivity? **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 40, n. 2, p. 229-235, 2007.

BYINGTON, R.P.; DAVIS, B.R.; PLEHN, J.F.; WHITE, H.D.; BAKER, J.; COBBE, S.M.; SHEPHERD, J. Reduction of stroke events with pravastatin: the Prospective Pravastatin Pooling (PPP) Project. **Circulation**. Jan 23;103(3):387-92, 2001.

CAI, D.; YUAN, M.; FRANTZ, D. F.; MELANDEZ, P. A.; HANSEN, L.; LEE, J.; SHOELSON, S. E. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. **Nat Med.**, v. 11, n. 2, p. 183-190, Feb. 2005.

CAMPO, V. L.; CARVALHO, I. Estatinas hipolipêmicas e novas tendências terapêuticas. **Quim. Nova**, v. 30, p. 425-430, 2007.

CARLSSON, A.; SUNDKVIST, G.; GROOP, L.; TUOMI, T. Insulin and glucagon secretion in patients with slowly progressing autoimmune diabetes (LADA). **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 85, p. 76-80, 2000.

CARVALHO, M. H. C.; COLAÇO, A. L.; FORTES, Z. B. Citocinas, Disfunção Endotelial e Resistência à Insulina. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 50, p. 25-31, 2006.

CAVALHER-MACHADO, S. C.; DE LIMA, W. T.; DAMAZO, A. S.; DE FRIAS CARVALHO, V.; MARTINS, M. A.; SILVA, P. M.; SANNOMIYA, P. Down-regulation of mast cell activation and airway reactivity in diabetic rats: role of insulin. **Eur. Respir. J.**, v. 24, p. 552-558, 2004.

CERIELLO, A.; PICONI, L.; QUAGLIARO, L.; ROS, R. D.; MARINI, C.; GIUGLIANO, D. Intermittent high glucose enhances ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin expression in human umbilical endothelial cells in culture: the role of poly(ADP-ribose) polymerase. **FASEB J.**, v. 17, p. 260, 2003.

CHALASANI, N.; TEAL, E.; HALL, S. D. Effect of rosiglitazone on serum liver biochemistries in diabetic patients with normal and elevated baseline liver enzymes. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 100, p. 1317-1321, 2005.

CHAUDHRY, J.; GHOSH, N. N.; ROY, K.; CHANDRA, R. Antihyperglycemic effect of a new thiazolidinedione analogue and its role in ameliorating oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. **Life Sci.**, v. 80, p. 1135-1142, 2007.

CLOSING the gap: the problem of diabetes mellitus in the United States. The Carter Center of Emory University. **Diabetes Care**, v. 8, n. 4, p. 391-406, 1985.

COLHOUN, H. M.; BETTERIDGE, D. J.; DURRINGTON, P. N. Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicentre randomised placebo-controlled trial. **Lancet**, v. 364, p. 685-696, 2004.

CONIFF, R. F.; SHAPIRO, J. A.; ROBBINS, D.; KLEINFELD, R.; SEATON, T. B.; BEISSWENGER, P.; MCGILL, J. B. Reduction of glycosylated hemoglobin and postprandial hyperglycemia by acarbose in patients with NIDDM. A placebo-controlled dose-comparison study. **Diabetes Care**, v. 18, p. 817-824, 1995.

CORDER, E. H.; SAUNDERS, A. M.; STRITTMATTER, W. J.; SCHMECHEL, D. E.; GASKELL, P. C.; SMALL, G. W.; ROSES, A. D.; HAINES, J. L.; PERICAK-VANCE, M. A. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. **Science**, v. 261, p. 921-923, 1993.

COUTINHO, M.; GERSTEIN, H. C.; WNAG, Y.; YUSUF, S. The relationship between glucose and incident cardiovascular events. **Diabetes Care**, v. 22, p. 233-240, 1999.

CRISBY, M.; NORDIN-FREDRIKSSON, G.; SHAH, P. K.; YANO, J.; ZHU, J.; NILSSON, J. Pravastatin treatment increases collagen content and decreases lipid content, inflammation, metalloproteinases, and cell death in human carotid plaques: implications for plaque stabilization. **Circulation**, v. 103, p. 926-933, 2001.

CROSS, D. A.; ALESSI, D. R.; COHEN, P.; ANDJELKOVICH, M.; HEMMINGS, B. A. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. **Nature**, v. 378, p. 785-789, 1995.

CUTFIELD, R.; ALBU, D. S.; CHAN, I. F.; MOATAMED, F.; PERIC-GOLIA, L.; WILSON, D. E. Mortality and renal failure in the streptozocin-alloxan diabetic dog attributed to contaminated alloxan preparations. **Horm. Metab. Res.**, v. 16, p. 549-550, 1984.

D'ORAZIO, P.; BURNETT, R. W.; FOGH-ANDERSEN, N.; JACOBS, E.; KUWA, K.; KULPMANN, W. R.; LARSSON, L.; LEWENSTAM, A. J.; MAAS, A. H.; MAGER, G.; NASKALSKI, J. W.; OKORODUDU, A. O. Approved IFCC Recommendation on Reporting Results for Blood Glucose (Abbreviated). **Clin. Chem.**, v. 51, n. 9, p. 1573-1576, 2005.

DAHLQUIST, G. The aetiology of type 1 diabetes: an epidemiological perspective. **Acta Paediatr. Suppl.**, v. 425, p. 5-10, 1998.

DANDONA, P.; ALJADA, A.; CHAUDHURI, A.; MOHANTY, P. Endothelial dysfunction, inflammation and diabetes. **Rev. Endocr. Metab. Dis.**, v. 5, p. 189-197, 2004.

DAVIS, R. J. Signal transduction by the c-Jun N-terminal kinase. **Biochem. Soc. Symp.**, v. 64, p. 1-12, 1999.

DECODE STUDY GROUP. Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. **Lancet**, v. 3534, p. 617-621, 1999.

DECODE STUDY GROUP. Will new diagnostic criteria for diabetes mellitus change phenotype of patients with diabetes? Reanalysis of European epidemiological data. **BMJ**, v. 317, p. 371-375, 1998.

DENOYELLE, C.; VASSE, M.; KÖRNER, M.; MISHAL, Z.; GANNÉ, F.; VANNIER, J. P.; SORIA, J.; SORIA, C. Cerivastatin, an inhibitor of HMG-CoA reductase, inhibits the signaling pathways involved in the invasiveness and metastatic properties of highly invasive breast cancer cell lines: an in vitro study. **Carcinogenesis**, v. 22, p. 1139-1148, 2001.

DHANABAL, S. P.; RAJA, M. K.; RAMANATHAN, M.; SURESH, B. Hypoglycemic activity of *Nymphaea stellata* leaves ethanolic extract in alloxan induced diabetic rats. **Fitoterapia**, v. 78, p. 288-291, 2007.

DHAR, P.; CHATTOPADHYA, K.; BHATTACHARYYA, D.; BISWAS, A.; ROY, B.; GHOSH, S. Ameliorative Influence of Sesame Lignans on Lipid Profile and Lipid Peroxidation in Induced Diabetic Rats. **J. Agric. Food Chem.**, v. 55, p. 5875-5880, 2007.

DICHTL, W.; DULAK, J.; ERICK, M.; ALBER, H. F.; SCHWARZACHER, S. P.; ARES, M. P. HMG-CoA reductase inhibitors regulate inflammatory transcription factors in human endothelial and vascular smooth muscle cells. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 23, p. 58-63, 2003.

DIMMELER, S.; AICHER, A.; VASA, M.; MILDNER-RIHM, C.; ADLER, K.; TIEMANN, M.; RÜTTEN, H.; FICHTLSCHERER, S.; MARTIN, H.; ZEIHNER, A.M. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via the PI 3-kinase/Akt pathway. **J. Clin. Invest.**, v. 108, p. 391-397, 2001.

DIOMEDE, L.; ALBANI, D.; FRUSCELLA, P.; BRUNO, A.; PICCARDI, N.; BIANCHI, M.; SALMONA, M.; SOTTOCORNO, M.; ROMANO, M. Cholesterol homeostasis and inflammation: relationship between sterol regulatory element binding protein-1 activation and leukocyte recruitment. **Eur. Clin. Invest.**, v. 78, p. 29-43, 1999.

DOMINICZAK, M. H.; BELL, J.; COX, N. H.; McCRUDEN, D. C.; JONES, S. K.; FINLAY, A.Y.; PERCY-ROBB, I. W.; FRIER, B. M.; Increased collagen-linked fluorescence in skin of young patients with type 1 diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 13, p. 468-472, 1990.

DOWNS, J. R.; CLARFIELD, M.; WEIS, S.; WHITNEY, E.; SHAPIRO, D. R.; BEERE, P.A.; LANGENDORFER, A.; STEIN, E. A.; KRUYER, W.; GOTTO, A. M. Primary

prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels. **JAMA**, v. 279, p. 1615–1622, 1998.

ELROD, J. W.; LEFER, D. J. The effects of statins on endothelium, inflammation and cardioprotection. **Drugs News Perspect.**, v. 18, p. 229-236, 2005.

ERIKSSON, J.; FORSÉN, B.; HÄGGBLUM, M.; TEPPONEN, A.M.; GROOP, L. Clinical and metabolic characteristics of type 1 and type 2 diabetes: an epidemiological study from the Närpes community in Western Finland. **Diabet. Med.**, v. 9, n. 7, p. 654-660, 1992.

ETO, M.; KOZAI, T.; COSENTINO, F.; JOCH, H.; LUSCHER, T. F. Statin prevents tissue factor expression in human endothelial cells: role of Rho/Rhokinase and Akt pathways. **Circulation**, v. 105, p. 1756–1759, 2002.

FAIRCHILD, R. S.; KYNER, J. L.; ABDOU, N. J. Specific immunoregulation abnormality in insulin dependent diabetes mellitus. **J. Lab. Clin. Med.**, v. 99, n. 2, p. 175-185, 1982.

FAJANS, S. S.; BELL, G. I.; POLONSKY, K. S. Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of Maturity-Onset Diabetes of the Young. **N. Engl. J. Med.**, v. 345, n. 13, p. 971-980, 2001.

FARNIER, M. Cerivastatin in the treatment of mixed hyperlipidemia: the RIGHT study. The Cerivastatin Study Group. Cerivastatin Gemfibrozil Hyperlipidemia Treatment. **Am. J. Cardiol.**, v. 82, n. 4B, p. 47J-51J, 1998.

FEINSTEIN, R.; KANETY, H.; PAPA, M. Z.; LUNENFELD, B.; KARASIK, A. Tumor necrosis factor- α suppress insulin-induced tyrosine phosphorylation of insulin receptor and its substrates. **J. Biol. Chem.**, v. 268, p. 26055-26058, 1993.

FOGH-ANDERSEN, N.; WIMBERLEY, P. D.; THODE, J.; SIGGAARD-ANDERSEN, O. Direct reading glucose electrodes detect the molality of glucose in plasma and whole blood. **Clin. Chem. Acta**, v. 189, p. 33-38, 1990.

FORTES, Z. B.; GARCIA LEME, J.; SCIVOLETTO, R. Vascular reactivity in diabetes mellitus: possible role of insulin on the endothelial cell. **Br. J. Pharmacol.**, v. 83, p. 635-643, 1984.

FOSS-FREITAS, M. C.; FOSS, M. C. Cetoacidose diabética e estado hiperglicêmico hiperosmolar. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 36, p. 389-393, 2003.

FRUSCELLA, B. P.; SALMONA, M.; DIOMEDE, L.; ALBANI, D.; SOTTOCORNO, M.; DONATI, M.B. In Vivo Anti-Inflammatory Effect of Statins Is Mediated by Nonsterol Mevalonate Products Arterioscler. **Thromb. Vasc. Biol.**, v. 21, p. 1327-1332, 2001.

FRUSCELLA, P.; ROMANO, M.; ALBANI, D.; BERNASCONI, S.; SIRONI, M.; LUINI, W.; SALMONA, M.; BRUNO, A.; DIOMEDE, L. Inhibition of HMG-CoA reductase activity by hypercholesterolemia reduces leukocyte recruitment and MCP-1 production in local inflammation. **Cytokine**, v. 12, p. 1100–1103, 2000.

GALILI, U. The alpha-gal epitope and the anti-Gal antibody in xenotransplantation 511 and in cancer immunotherapy. **Immunol. Cell Biol.**, v. 83, p. 674–686, 2005.

GARCIA, L. J.; HAMAMURA, L.; LEITE, M. P. Pharmacological analysis of the acute inflammatory process induced in rat's paw by local injection of carrageenin and by heating. **Br. J. Pharmacol.**, v. 48, p. 88-96, 1973.

GHOSH, S.; KARIN, M. Missing pieces in the NF- κ B puzzle. **Cell**, v. 109, suppl., p. S81-S96, 2002.

GHOSH, S.; SURYAWANSHI, S. A. Effect of Vinca rosea extracts in treatment of alloxan diabetes in male albino rats. **Indian J. Exp. Biol.**, v. 39, n. 8, p. 748, 2001.

GINSBURG, H.N. Efficacy and mechanism of action of statins in the treatment of diabetic dyslipidemia. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 91, p. 383-392, 2006.

GOLDIN A.; BECKMAN, J.A.; SCHMIDT, A.M.; CREAGER, M.A. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. **Circulation**. Aug 8;114(6):597-605, 2006.

GOLDSTEIN, D. E.; LITTLE, R. R.; LORENZ, R. A.; MALONE, J. I.; NATHAN, D.; PETERSON, C. M.; SACKS, D. B. Tests of glycemia in diabetes. **Diabetes Care**, v. 27, p. 1761-1773, 2004.

GROOP, L.; BOTAZZO, G. F.; DONIACH, D. Islet cell antibodies identify latent type 1 diabetes in patients aged 35-75 years at diagnosis. **Diabetes**, v. 35, n. 2, p. 237-241, 1986.

GROSS, J. L.; SILVEIRO, S. P.; CAMARGO, J. L.; REICHEL, A. J.; DE AZEVEDO, M. J. Diabetes Mellito: Diagnóstico, Classificação e Avaliação do Controle Glicêmico. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 46, p. 16-26, 2002.

GUIJARRO, C.; BLANCO-COLIO, L. M.; ORTEGO, M. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme reductase and isoprenylation inhibitors induce apoptosis of vascular smooth muscle cells in culture. **Circ. Res.**, v. 83, p. 490-500, 1998.

GUILLAUSSEAU, P. J.; MASSIN, P.; DUBOIS-LAFORGUE, D.; TIMSIT, J.; VIRALLY, M.; GIN, H. Maternally inherited diabetes and deafness: a multicenter study. **Ann. Intern. Med.**, v. 3, p. 721-728, 2001.

HAFFNER, S. M. Do interventions to reduce coronary heart disease reduce the incidence of type 2 diabetes? A possible role for inflammatory factors. **Circulation**, v. 103, n. 3, p. 346-347, 2001.

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**, v. 360, p. 7-22, 2002.

HERNANDEZ-PRESA, M. A.; MARTIN-VENTURA, J. L.; ORTEGO, M.; GOMEZ-HERNANDEZ, A.; TUNON, J.; HERNANDEZ-VARGAS, P. Atorvastatin reduces the expression of cyclooxygenase-2 in a rabbit model of atherosclerosis and in cultured vascular smooth muscle cells. **Atherosclerosis**, v. 160, p. 49-58, 2002.

HIROSUMI, J.; TUNCMAN, G.; CHANG, L.; GORGUN, C. Z.; UYSAL, K. T.; MAEDA, K. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. **Nature**, v. 420, p. 333-336, 2002.

HOTHER-NIELSEN, O.; FABER, O.; SORENSEN, N. S.; BECK-NIELSEN, H. Classification of newly diagnosed diabetic patients as insulin-requiring or non-insulin-requiring based on clinical and biochemical variables. **Diabetes Care**, v. 11, p. 531-537, 1988.

HUPTAS, S.; GEISS, H. C.; OTTO, C.; PARHOFER, K. G. Effect of atorvastatin (10 mg/day) on glucose metabolism in patients with metabolic syndrome. **Am. J. Cardiol.**, v. 98, p. 66-69, 2006.

IBRAHIM, H. A.; VORA, J. P. Diabetic nephropathy. **Baillieres Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 13, p. 239-264, 1999.

IMAGAWA, A.; HANAFUSA, T.; MIYAGAWA, J.I.; MATSUZAWA, Y. A novel subtype of type 1 diabetes mellitus characterized by a rapid onset and an absence of diabetes-related antibodies. **N. Engl. J. Med.**, v. 342, p. 301-307, 2000.

INDIAN PHARMACOPOEIA. New Delhi: Ministry of health and family welfare. Govt. of India. The Controller of publications, 1996.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION (IDF). **Diabetes Atlas**. [S.l.], 2006.

ISTVAN, E. S.; DEISENHOFER, J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase. **Science**, v. 292, p. 1160-1164, 2001.

ITAU, S.; RUDERMAN, N. R.; SCHMIEDER, F.; BODEN, G. Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C and I κ B- α . **Diabetes**, v. 51, p. 2205-2211, 2002.

JAKOBISIAK, M.; GOLAB, J. Potential antitumor effects of statins (Review). **Int. J. Oncol.**, v. 23, p.1055-1069, 2003.

JIALAL, I.; STEIN, D.; BALIS, D.; GRUNDY, S.M.; ADAMS-HUET, B.; DEVARAJ, S. Effect of hydroxymethyl glutaryl coenzyme a reductase inhibitor therapy on high sensitive C-reactive protein levels. **Circulation**, v. 103, p. 1933-1935, 2001.

JUNOD, A.; LAMBERT, A.E.; STAUFFACHER, W.; RENOLD, A.E. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. **J. Clin. Invest.**, v. 48, p. 2129-2139, 1969.

KALINOWSKI, L.; DOBRUCKI, L.W.; SZCZEPANSKA-KONKEL, M.; JANKOWSKI, M.; MARTYNIENEC, L.; ANGIELSKI, S.; MALINSKI, T. Third-generation beta-blockers stimulate nitric oxide release from endothelial cells through ATP efflux: a novel mechanism for antihypertensive action. **Circulation**, v. 107, p. 2747-2752, 2003.

KANEDO, T.; WANG, P. Y.; TAWATA, M.; SATO, A. Low carbohydrate intake before oral glucose tolerance tests. **Lancet**, v. 352, p. 289, 1998.

KANETO, H.; FUJII, J.; MYINT, T.; MIYAZAWA, N.; ISLAM, K.N.; KAWASAKI, Y.; SUZUKI, K.; NAKAMURA, M.; TATSUMI, H.; YAMASAKI, Y.; TANIGUCHI, N. Reducing sugars trigger oxidative modification and apoptosis in pancreatic beta-cells by provoking oxidative stress through the glycation reaction. **Biochem. J.**, v. 320, p. 855-863, 1996.

KAY, T. W.; THOMAS, H. E.; HARRISON, L. C.; ALLISON, J. The beta-cell autoimmune diabetes: many mechanisms and pathways of loss. **Trends Endocrinol. Metab.**, v. 11, p. 11-15, 2000.

KING, H.; AUBERT, R. E.; HERMAN, W. H. Global burden of diabetes 1995–2025 prevalence, numerical estimates and projections. **Diabetes Care**, v. 21, n. 9, p. 1414–1431, 1998.

KIRSH, C.; ECKERT, G.P.; KOUDINOV, A. R.; MULLER, W. E. Brain cholesterol, statins and Alzheimer's Disease **Pharmacopsychiatry**, v. 36, p. 113-119, 2003.

KITA, T.; BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. Feedback regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in livers of mice treated with mevilonin, a competitive inhibitor of the reductase. **J. Clin. Invest.**, v. 66, p. 1094 –1100, 1980.

KITABCHI, A. E.; UMPIERREZ, G. E.; MURPHY, M. B.; BARRET, E. J.; KREISBERG, R. A.; MALONE, J. I. Management of hyperglycemic crises in patients with diabetes. **Diabetes Care**, v. 24, p. 131-153, 2001.

KNOPP, R. H. Drug treatment of lipid disorders. **N. Engl. J. Med.**, v. 341, p. 498-511, 1999.

KOBAYASHI, T.; SONG, Q. H.; HONG, T.; KITAMURA, H.; CYONG, J. C. Preventative effects of the flowers of *Inula britannica* on autoimmune diabetes in C57BL/KsJ mice induced by multiple low doses of streptozotocin. **Phyther. Res.**, v. 16, p. 377-382, 2002.

KUREISHI, Y.; LUO, Z.; SHIOJIMA, I.; BIALIK, A.; FULTON, D.; LEFER, D.J.; SESSA, W. C.; WALSH, K. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. **Nat. Med.**, v. 6, 1004-1010, 2000.

LALLI, C. A.; PAULI, J. R.; PRADA, P. O.; CINTRA, D. E.; ROPELLE, E. R.; VELLOSO, L. A.; SAAD, M. J. Statin modulates insulin signaling and insulin resistance in liver and muscle of rats fed a high-fat diet. **Metabolism**, v. 57, n. 1, p. 57–65, 2008.

LANDMESSER, U.; BAHLMANN, F.; MUELLER, M. Simvastatin versus ezetimibe. Pleiotropic and lipid-lowering effects on endothelial function in humans. **Circulation**, v. 111, p. 2356–2363, 2005.

LANDSBERGER, M.; JANTZEN, F.; KONEMANN, S.; FELIX, S. B. Blockade of geranylgeranylation by rosuvastatin upregulates eNOS expression in human venous endothelial cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 336, p. 1005-1009, 2005.

LEE, Y. H.; GIRAUD, J.; DAVIS, R. J.; WHITE, M. F. c-Jun N-terminal kinase (JNK) mediates feedback inhibition of the insulin signaling cascade. **J. Biol. Chem.**, v. 278, p. 2896-2902, 2003.

LEIBEL, R. L.; CHUNG, W. K.; CHUA, S. C. The molecular genetics of rodent single gene obesities. **J. Biol. Chem.**, v. 272, p. 31937–31940, 1997.

LENZEN, S.; DRINKGERN, J.; TIEGE, M. Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 20, p. 463–466, 1996.

LENZEN, S.; PATTEN, U. Alloxan: history and mechanism of action. **Diabetologia**, v. 31, p. 337–342, 1988.

LEUNG, B. P.; SATTAR, N.; CRILLY, A.; PRACH, M.; MCCAREY, D.W.; PAYNE, H.; MADHOK, R.; CAMPBELL, C.; GRACIE, J. A.; LIEW, F. Y.; MCINNES, I. B. A novel anti-inflammatory role for simvastatin in inflammatory arthritis. **J. Immunol.**, v. 170, n. 3, p. 1524–1530, 2003.

LI, H.; LINDHOLM, E.; ALMGREN, P.; GUSTAFSSON, A.; FORSBLOM, C.; GROOP, L. Possible human leucocyte antigen-mediated genetic interaction between type 1 and type 2 diabetes. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 86, p. 574–582, 2001.

LI, Q.; VERMA, I. M. NF-kappaB regulation in the immune system. **Nat. Rev. Immunol.**, v. 2, p. 725–734, 2002.

LIAO, J. K. Effects of statins on 3 HMG CoA reductase inhibition beyond low-density lipoprotein cholesterol. **Am. J. Cardiol.**, v. 96, n. 5A, p. 24F–33F, 2005.

LIAO, J. K. Statin therapy for cardiac hypertrophy and heart failure. **J. Investig. Med.**, v. 52, n. 4, p. 248–253, 2004.

LIAO, J. K.; LAUFS, U. Pleiotropic effects of statins. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 45, p. 89–118, 2005.

LLOYD, C. E.; KLEIN, R.; MASER, R. E.; KULLER, L. H.; BECKER, D. J.; ORCHARD, T. J. The progression of retinopathy over 2 years: the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications (EDC) Study. **J. Diabetes Complication**, v. 9, n. 3, p. 140–148, 1995.

MAKAROV, S.S. NF-kappaB as a therapeutic target in chronic inflammation: recent advances. **Mol Med Today**. Nov;6(11):441–8, 2000.

MALERBI, D.; FRANCO, L. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30–69 yr. **Diabetes Care**, v.15, p. 1509–1516, 1992.

MANTOVANI, A.; BUSSOLINO, F.; INTRONA, M. Cytokine regulation of endothelial cell function: from molecular level to the bed side. **Immunol. Today**, v. 18, p. 231–239, 1997.

MARON, D. J.; FAZIO, S.; LINTON, M. F. Current perspectives on statins. **Circulation**, v. 101, p. 207–213, 2000.

MARZ, W.; WIELAND, H. HMG-CoA reductase inhibition: anti-inflammatory effects beyond lipid lowering? **Herz**, v. 25, p. 117–125, 2000.

- McTAGGART, F.; BUCKETT, L.; DAVIDSON, R. Preclinical and clinical pharmacology of rosuvastatin, a new 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A reductase inhibitor. **Am. J. Cardiol.**, v. 87, p. 28-32, 2001.
- MEEKING, D. R.; CUMMINGS, M. H.; THORNE, S.; DONALD, A.; CLARKSON, P.; CROOK, J. R.; WATTS, G. F.; SHAW, K. M. Endothelial dysfunction in type 2 diabetic subjects with and without microalbuminuria. **Diabet Med.**, v. 16, n. 10, p. 841-847, 1999.
- MEHRA, M. R.; RAVAL, N.Y. Metaanalysis of statins and survival in de novo cardiac transplantation. **Transplant. Proc.**, v. 36, n. 5, p. 1539-1541, 2004.
- MOGENSEN, C. E.; CHRISTENSEN, C. K.; VITTINGHUS, E. The stages in diabetic renal disease with emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. **Diabetes**, v. 32, p. 64-78, 1983.
- MOMBOULI, J.; VANHOUTE, P. M. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. **J. Mol. Cell Cardiol.**, v. 31, p. 61-74, 1999.
- MONTANER, S.; PERONA, R.; SANIGER, L.; LACAL, J. C. Activation of serum response factor by RhoA is mediated by the nuclear factor- κ B and C/EBP transcription factors. **J. Biol. Chem.**, v. 274, p. 8506-8515, 1999.
- MOROHOSHI, M.; FUJISAWA, K.; UCHIMURA, I.; NUMANO, F. Glucose-independent interleukin 6 and tumor necrosis factor production by human peripheral blood monocytes in vitro. **Diabetes**, v. 45, p. 954-959, 1996.
- MUKAI, Y.; SHIMOKAWA, H.; MATOBA, T.; HIROKI, J.; KUNIHIRO, I.; FUJIKI, T.; TAKESHITA, A. Acute vasodilator effects of HMG-CoA reductase inhibitors: involvement of PI3-kinase/Akt pathway and Kv channels. **J. Cardiol. Pharmacol.**, v. 42, p.118-124, 2003.
- MURAKAMI, M.; GOTO, T.; SAITO, Y.; GOTO, S.; KOCHI, M.; USHIO, Y. The inhibitory effect of simvastatin on growth in malignant gliomas--with special reference to its local application with fibrin glue spray in vivo. **Int. J. Oncol.**, v. 19, p. 525-531, 2001.
- NAGAPPA, A. N.; THAKURDESAI, P. A.; RAO, N.V.; SINGH, J. Antidiabetic activity of *Terminalia catappa* Linn fruits. **J. Ethnopharmacol.**, v. 88, n. 1, p. 45-50, 2003.
- NAKAGAMI, H.; JENSEN, K.S.; LIAO, J.K. A novel pleiotropic effect of statins: prevention of cardiac hypertrophy by cholesterol-independent mechanisms. **Ann. Med.**, v. 35, p. 398-403, 2003.
- NEELY, K. A.; QUILLEN, D. A.; SCHACHAT, A. P.; GARDNER, T.W.; BLANKENSHIP, G.W. Diabetic retinopathy. **Med. Clin. North Am.**, v. 82, p. 847-876, 1998.
- NEWMAN, A.; CLUTTERBUCK, R. D.; POWLES, R. I.; CATOVSKY, D.; MILLAR, J. L. A comparison of the effect of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors simvastatin, lovastatin and pravastatin on leukaemic and normal bone marrow progenitors. **Leuk. Lymphoma**, v. 24, n. 5/6, p. 533-537, 1997.

NEWMAN, A.; CLUTTERBUCK, R. D.; POWLES, R. L.; MILLAR, J. L. Selective inhibition of primary acute myeloid leukaemia cell growth by simvastatin. **Leukemia**, v. 8, p. 2023-2029, 1994.

NIKULINA, M. A.; SANDHU, N.; SHAMIM, Z.; ANDERSEN, N. A.; OBERSON, A.; DUPRAZ, P. The JNK binding domain of islet-brain 1 inhibits IL-1 induced JNK activity and apoptosis but not the transcription of key proapoptotic or protective genes in insulin secreting cell lines. **Cytokine**, v. 24, p. 13-24, 2003.

NISHIKIMI, T.; TADOKORO, K.; WANG, X.; MORI, Y.; ASAKAWA, H.; AKIMOTO, K.; YOSHIHARA, F.; HORIO, T.; MINAMINO, N.; MATSUOKA, H. Cerivastatin, a hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor, inhibits cardiac myocyte hypertrophy induced by endothelin. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 453, p. 175-181, 2002.

NISHIMURA, S.; SATOH, J.; TOYOTA, T. Serum TNF-alfa levels and diabetic complications in NIDDM patients. **Diabetologia**, v. 40, p. 601, 1997.

NISSEN, S.E.; TUZCU, E.M.; SCHOENHAGEN, P.; CROWE, T.; SASIELA, W. J.; TSAI, J. Statin therapy, LDL cholesterol, C-reactive protein, and coronary artery disease. **N. Engl. J. Med.**, v. 352, p. 29-38, 2005.

O'BRIEN, T.; NGUYEN, T. T.; ZIMMERMAN, B. R. Hyperlipidemia and diabetes mellitus. **Mayo Clin Proc.**, v. 73, p. 969-976, 1998.

OKADA, K.; MAEDA, N.; KIKUCHI, K.; TATSUKAWA, M.; SAWAYAMA, Y.; HAYASHI, J. Pravastatin improves insulin resistance in dyslipidemic patients. **J. Atheroscler. Thromb.**, v. 12, p. 322-329, 2005.

ONORATO, J. M.; JENKINS, A. J.; THORPE, S. R.; BAYNES, J. W. Pyridoxamine, an inhibitor of advanced glycation reactions, also inhibits advanced lipoxidation reactions: mechanism of action of pyridoxamine. **J. Biol. Chem.**, v. 275, p. 21177-21184, 2000.

OSADEBE, P. O.; OKIDE, G. B.; AKABOGU, I. C. Study on anti-diabetic activities of crude methanolic extracts of *Loranthus micranthus* (Linn.) sourced from five different host trees. **J. Ethnopharmacol.**, v. 95, n. 2/3, p. 133-138, 2004.

PANZRAM, G. Mortality and survival in type 2 (non-insulindependent) diabetes mellitus. **Diabetologia**, v. 30, p. 123-131, 1987.

PAOLISSO, G.; BARBAGALLO, M.; PETRELLA, G.; RAGNO, E.; BARBIERI, M.; GIORDANO, M. Effects of simvastatin and atorvastatin administration on insulin resistance and respiratory quotient in aged dyslipidemic noninsulin dependent diabetic patients. **Atherosclerosis**, v. 150, p. 121- 127, 2000.

PARK, Y. S.; GUIJARRO, C.; KIM, Y.; MASSY, Z. A.; KASISKE, B. L.; O'DONNELL, M. P. Lovastatin reduces glomerular macrophage influx and expression of monocyte chemoattractant protein-1 mRNA in nephrotic rats. **Am. J. Kidney Dis.**, v. 31, p. 190-194, 1998.

PASSOS, V. M. A.; BARRETO, S. M.; DINIZ, L. M. Type 2 diabetes: prevalence and associated factors in a Brazilian community - the Bambuí health and aging study. **Sao Paulo Med. J.**, v. 123, p. 66-71, 2005.

PASTERNAK, R. C.; SMITH, S. C.; BAIREY-MERZ, C. N.; GRUNDY, S. M.; CLEEMAN, J. I.; LENFANT, C. ACC/AHA/NHLBI. Clinical advisory on the use and safety of statins. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 40, n. 3, p. 567-572, 2002.

PEDROSA, H. C.; NERY, E. S.; SENA, F. V.; NOVAES, C.; FELDKIRCHER, T. C.; DIAS, M. S. O. O desafio do projeto salvando o pé diabético. **Terapia em Diabetes**, v. 4, p. 1-10, 1998.

PERONA, R.; LOPEZ-MIRANDA, J.; ESCRIBANO, A.; BERRAL, F.J.; MARIN, C.; BRAVO, D. Activation of the nuclear factor- κ B by Rho, CDC42, and Rac-1 proteins. **Genes Dev.**, v. 11, p. 463-475, 1997.

PINTO, F. M.; ANÇÃO, M. S.; SAKUMOTO, M.; FERREIRA, S. R. G. Contribuição da nefropatia diabética para a insuficiência renal crônica na Grande São Paulo. **J. Bras. Nefrol.**, v. 19, p. 256-263, 1997.

POZZILLI, P.; SIGNORE, A.; LESLIE, R. D. G. Infections, immunity and diabetes. In: ABERTI, K. G. M. M.; ZIMMET, P.; DE FRONZO, R. A.; KEEN, H. (Ed.). **International textbook of diabetes mellitus**. [S.l.]: Wiley, 1997. p. 1231-411.

RADOMSKI, M. W.; REES, D. D.; DUTRA, A.; MONCADA, S. S-nitroso-glutathione inhibits platelet activation in vitro and in vivo. **Br. J. Pharmacol.**, v. 107, p. 745-749, 1992.

RAMCHANDRAN, A.; SNEHLATA, C.; VISWANATHAN, V. Burden of type 2 diabetes and its complication—the Indian scenario. **Curr. Sci.**, v. 83, p. 1471–1476, 2002.

RATNER, R.E.; MAGGS, D.; NIELSEN, L. L.; STONEHOUSE, A. H.; POON, T.; ZHANG, B.; BICSAK, T. A.; BRODOWS, R. G.; KIM, D. D. Long-term effects of exenatide therapy over 82 weeks on glycaemic control and weight in over-weight metformin-treated patients with type 2 diabetes mellitus. **Diabetes Obes. Metab.**, v. 8, n. 4, p. 419-428, 2006.

RAZ, I.; SKYLER, J.; SHAFRIR, E. **Diabetes**: From research to diagnosis and treatment. [S.l.]: Martin Dunitz, 2003.

REDDI, A. S.; CAMERINI-DAVALOS, R. A. Diabetic nephropathy: an update. **Arch. Intern. Med.**, v. 150, p. 31-43, 1990.

REES, D. A.; ALCOLADO, J. C. Animal models of diabetes mellitus. **Diabet. Med.**, v. 22, p. 359–370, 2005.

REIBER, G. E.; LIPSKY, B. A.; GIBBONS, G. W. The burden of diabetic foot ulcers. **Am. J. Surg.**, v. 176, p. 5-10, 1998.

REICHELT, A. J.; SPICHLER, E. R.; BRANCHTEIN, L.; NUCCI, L. B.; FRANCO, L. J.; SCHMIDT, M. I. Fasting plasma glucose is a useful test for the detection of gestational

diabetes. For the Brazilian Study of Gestational Diabetes (EBDG) Working Group. **Diabetes Care**, v. 21, n. 8, p. 1246-1249, 1998.

REPORT of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 20, n. 7, p. 1183-1197, 1997.

RIDKER, P. M.; RIFAI, N.; PFEFFER, M. A.; SACKS, F. M.; MOYE, L. A.; GOLDMAN, S.; FLAKER, G. C.; BRAUNWALD, E. Inflammation, pravastatin and risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. **Circulation**, v. 98, p. 839-844, 1998.

ROMANO, M.; DIOMEDE, L.; SIRONI, M.; MASSIMILIANO, L.; SOTTOCORNO, M.; POLENTARUTTI, N.; GUGLIELMOTTI, A.; ALBANI, D.; BRUNO, A.; FRUSCELLA, P.; SALMONA, M.; VECCHI, A.; PINZA, M.; MANTOVANI, A. Inhibition of monocyte chemotactic protein-1 synthesis by statins. **Lab. Invest.**, v. 80, p. 1095-1100, 2000.

ROMANO, M.; SIRONI, M.; TONIATTI, C.; POLENTARUTTI, N.; FRUSCELLA, P.; GHEZZI, P.; FAGGIONI, R.; LUINI, W.; VAN HINSBERGH, V.; SOZZANI, S.; BUSSOLINO, F.; POLI, V.; CILIBERTO, G.; MANTOVANI, A. Role of IL-6 and its soluble receptor in induction of chemokines and leukocyte recruitment. **Immunity**, v. 6, n. 3, p. 315-325, 1997.

ROSENZWEIG, T.; BRAIMAN, L.; BAK, A.; ALT, A.; KUROKI, T.; SAMPSON, S.R. Differential effects of tumor necrosis factor alpha on protein kinase C isoforms and mediate inhibition of insulin receptor signaling. **Diabetes**, v. 51, p. 1921-1930, 2002.

ROSS, R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. **Nature**, v. 362, n. 6423, p. 801-809, 1993.

SAAD, M. J.; FOLLI, F.; KAHN, J. A.; KAHN, C. R. Modulation of insulin receptor, insulin receptor substrate-1, and phosphatidylinositol 3-kinase in liver and muscle of dexamethasone-treated rats. **J. Clin. Invest.**, v. 92, n. 4, p. 2065-2072, 1993.

SALTIEL, A. R.; KAHN, C. R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature**, v. 414, p. 799-806, 2001.

SALTIEL, A. R.; PESSIN, J. E. Insulin signaling pathway in time and space. **Trends Cell Biol.**, v. 12, p. 65-71, 2002.

SCHMIDT, M. I.; REICHEL, T. A. J. Consenso sobre diabetes gestacional e diabetes pré-gestacional. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 43, p. 14-18, 1999.

SCHOELSON, S. E.; LEE, J.; YUAN, M. Inflammation and the IKK β /I κ B/NF κ B axis in obesity and diet-induced insulin resistance. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v. 27, p. 49-52, 2003.

SEMPLE, R. K.; CHATTERJEE, V. K.; O'RAHILLY, S. PPAR gamma and human metabolic disease. **J. Clin. Invest.**, v. 116, p. 581-589, 2006.

SERVICE, F. J.; RIZZA, R. A.; ZIMMERMAN, B. R.; DYCK, P. J.; O'BRIEN, P. C.; MELTON III, L. J. The classification of diabetes by clinical and C-peptide criteria. A prospective population-based study. **Diabetes Care**, v. 20, p. 198-201, 1997.

SEVER, P. S.; DAHLOF, B.; POULTER, N. R. 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 Outcomes Trial—Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicentre randomised controlled trial. **Lancet**, v. 361, p. 1149-1158, 2003.

SHAN, J. J.; MING, Y.; REN, J. W. Anti-diabetic and hypolipidemic Effects of Aqueous-Extract from the Flower of *Inula japonica* in Alloxan-Induced Diabetic Mice. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 29, p. 455-459, 2005.

SHEPHERD, J.; COBBE, S.M.; FORD, I.; ISLES, C.G.; LORIMER, A.R.; MACFARLANE, P.W.; MCKILLOP, J.H.; PACKARD, C.J. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. **N Engl J Med**. Nov 16;333(20):1301-7, 1995.

SIERRA, M. In: ABRAHAM, D. J. (Ed.). **Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery**. 6th ed. New Jersey: Wiley-Interscience, 2003. v. 3, p. 339.

SIRONI, M.; BREVIARIO, B.; PROSERPIO, P.; BIONDI, A.; VECCHI, A.; VAN DAMME, J.; DEJANA, E.; MANTOVANI, A. IL-1 stimulates IL-6 production in endothelial cells. **J. Immunol.**, v. 142, p. 549-553, 1989.

SMITHERMAN, K. O.; PEACOCK, J. E. Infectious emergencies in patients with diabetes mellitus. **Med. Clin. North Am.**, v. 79, p. 53-77, 1995.

STAAL, A.; FRITH, J. C.; FRENCH, M. H.; SWARTZ, J.; GUNGOR, T.; HARRITY, T. W.; TAMASI, J.; ROGERS, M. J.; FEYEN, J. H. The ability of statins to inhibit bone resorption is directly related to their inhibitory effect on HMG-CoA reductase activity. **J. Bone Min. Res.**, v. 18, p. 88-96, 2003.

SUMPIO, B. Foot ulcers. **N. Engl. J. Med.**, v. 343, p. 787-793, 2000.

SUZUKI, M.; KAKUTA, H.; TAKAHASHI, A.; SHIMANO, H.; TADA-LIDA, K.; YOKOO, T. Effects of atorvastatin on glucose metabolism and insulin resistance in KK/Ay mice. **J. Atheroscler. Thromb.**, v. 12, p. 77-84, 2005.

SZABÓ, C.; ZANCHI, A; KOMJATI, K.; PACHER, P.; KROLEWSKI, A.S.; QUIST, W.C. Poly(ADP-Ribose) polymerase is activated in subjects at risk of developing type 2 diabetes and is associated with impaired vascular reactivity. **Circulation**, v. 106, p. 2680-2686, 2002.

SZKUDELSKI T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. **Physiol. Res.**, v. 50, n. 6, p. 537-546, 2001.

TEMME, E. H.; VAN HOYDONCK, P. G.; SCHOUTEN, E. G.; KESTELOOT, H. Effects of a plant sterol-enriched spread on serum lipids and lipoproteins in mildly hypercholesterolaemic subjects. **Acta Cardiol.**, v. 57, p. 111-115, 2002.

TOLMAN, K. G. The liver and lovastatin. **Am. J. Cardiol.**, v. 89, p. 1374-1380, 2002.

UNITED NATIONS POPULATION DIVISION. Department of Economic and Social Affairs. **World Urbanization Prospects: 1999 Revision**. New York, 1999.

USRDS ANNUAL DATA REPORT. Incidence and causes of treated ESRD. **Am. J. Kidney Dis.**, v. 18, p. 21-29, 1991.

VAN HARMELEN, V.; SKURK, T.; ROHRIG, K.; HAUMER, H. HMG-CoA reductase inhibitor cerivastatin inhibits interleukin-6 expression and secretion in human adipocytes. **Horm. Metab. Res.**, v. 35, p. 466-470, 2003.

VAUGHAN, C. J.; GOTTO, A. M.; BASSON, C. T. The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 35, p.1-10, 2000.

VAUGHAN, C.; MURPHY, M. B.; BUCKLEY, B. M. Statins do more than just lower cholesterol. **Lancet**, v. 348, p. 1079–1082, 1996.

VERVOORT, G.; TACK, C. J. Do we need new drugs for the treatment of type 2 diabetes mellitus? **Neth. J. Med.**, v. 65, n. 5, p. 157-159, 2007.

VINCENT, L.; SORIA, C.; MIRSHAHI, F.; OPOLON, P.; MISHAL, Z.; VANNIER, J. P.; SORIA, J.; HONG, L. Cerivastatin, an inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, inhibits endothelial cell proliferation induced by angiogenic factors in vitro and angiogenesis in in vivo models. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 22, n. 4, p. 623-629, 2002.

VLISSARA, H.; PALACE, M. R. Diabetes and advanced glycation end products. **J. Intern. Med.**, v. 251, n. 2, p. 87-101, 2002.

WAEHRE, T.; DAMA, J. K.; GULLESTAD, L.; HOLM, A. M.; PEDERSEN, T. R. Hydroxymethylglutaryl Coenzyme A Reductase Inhibitors Down-Regulate Chemokines and Chemokine Receptors in Patients With Coronary Artery Disease. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 41, n. 9, p. 263-268, 2003.

WAGNER, A. H.; GEBAUER, M.; GULDENZOPH, B.; HECKER, M. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase-independent inhibition of CD40 expression by atorvastatin in human endothelial cells. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 22, p. 1784-1789, 2002.

WAGNER, A. H.; KOHLER, T.; RUCKSCHLOSS, U.; JUST, I.; HECKER, M. Improvement of nitric oxide-dependent vasodilatation by HMGCoA reductase inhibitors through attenuation of endothelial superoxide anion formation. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 20, p. 61–69, 2000.

WANG, Z.; GLEICHMANN, H. GLUT2 in pancreatic islets: crucial target molecule in diabetes induced with multiple low-doses of streptozotocin in mice. **Diabetes**, v. 47, p. 50–56, 1998.

WERMUTH, C. G. In: WERMUTH, C. G. (Ed.). **The Practise of Medicinal Chemistry**. San Diego: Academic Press, 1996. p. 243-304.

WESTON, C. R.; LAMBRIGHT, D. G.; DAVIS, R. J. Signal transduction: MAP kinase signaling specificity. **Science**, v. 296, p. 2345-2347, 2002.

WHITE, C. M. Pharmacologic effects of HMG CoA reductase inhibitors other than lipoprotein modulation. **J. Clin. Pharmacol.**, v. 39, p. 111-118, 1999.

WIERZBICKI, A. S.; CROOK, M. A. Cholestatic liver dysfunction. **Lancet**, v. 354, n. 9182, p. 954, 1999.

WILD, S.; ROGLIC, G.; GREEN, A.; SICREE, R.; KING, H. Global Prevalence of Diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. **Diabetes Care**, v. 27, p. 1047–1053, 2004.

WITZTUM, J. L. Fármacos usados no tratamento das hiperlipoproteinemias In: HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E.; MOLINOFF, P. B.; RUDDON, R. W.; GOODMAN GILMAN, A. (Ed.). **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1996. cap. 36, p. 643-660.

WONG, V.; STAVAR, L.; SZETO, L.; UFFELMAN, K.; WANG, C.H.; FANTUS, G. Atorvastatin induces insulin sensitization in Zucker lean and fatty rats. **Atherosclerosis**, v. 184, n. 2, p. 348-355, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia**: report of a WHO/IDF consultation. Geneva, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications**: Report of a WHO Consultation. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Geneva, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Diabetes mellitus**: report of a WHO study group. Geneva, 1985. (Technical Report Series 727.).

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Immunodeficiency**: report of scientific group. Genova, 1978. (Technical Report Series 630).

WU, K. K. Control of cyclooxygenase-2 transcriptional activation by pro-inflammatory mediators. **Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids**, v. 72, n. 2, p. 89–93, 2005.

YEE, A.; MAJUMDAR, S.R.; SIMPSON, S.H.; MCALISTER, F.A.; TSUYUKI, R.T.; JOHNSON, J.A. Statin use in type 2 diabetes mellitus is associated with a delay in starting insulin. **Diabet Med**. v. 9, p. 962-7, 2004.

YOSHIDA, M.; SAWADA, T.; ISHII, H. HMG-CoA reductase inhibitor modulates monocyte-endothelial cell interaction under physiological flow conditions in vitro. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 21, p. 1165–1171, 2001.

ZAHNER, D.; MALAISSE, W. J. Kinetic behaviour of liver glucokinase in diabetes. I. Alteration in streptozotocin-diabetic rats. **Diabetes Res.**, v. 14, n. 3, p. 101–108, 1990.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)