

O Efeito da Pitavastatina na Reatividade Vascular em Coelhos Hipercolesterolêmicos

Effect of Pitavastatin on Vascular Reactivity in Hypercholesterolemic Rabbits

Eros Antonio de Almeida e Michiko Regina Ozaki

Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP - Brasil

Resumo

Fundamento: A pitavastatina é a mais nova estatina disponível no Brasil e com prováveis menores efeitos colaterais. Assim, a pitavastatina foi avaliada em coelhos hipercolesterolêmicos em relação à ação na reatividade vascular.

Objetivo: Investigar a menor dose de pitavastatina na redução dos lipídeos plasmáticos, colesterol e peroxidação lipídica tecidual e função endotelial em coelhos hipercolesterolêmicos.

Métodos: Trinta coelhos divididos em seis grupos (n=5): G1 - dieta ração padrão; G2 - dieta hipercolesterolêmica por 30 dias; G3 - dieta hipercolesterolêmica e a partir do 16º dia suplementada com pitavastatina (0,1 mg); G4 - dieta hipercolesterolêmica e suplementada com pitavastatina (0,25 mg); G5 - dieta hipercolesterolêmica e suplementada com pitavastatina (0,5 mg); G6 - dieta hipercolesterolêmica e suplementada com pitavastatina (1,0 mg). Após 30 dias foram dosados o colesterol total, HDL, triglicérides, glicose, creatinoquinase, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase e o LDL calculado. Aprofundada a anestesia com tiopental sódico e retirado segmentos de aorta para estudo da função endotelial, colesterol e peroxidação lipídica tecidual. O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi 5%.

Resultados: Colesterol total e LDL elevados significativamente em relação ao G1. HDL reduzida significativamente em G4, G5 e G6 em relação ao G2. Triglicérides, creatinoquinase, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, colesterol e peroxidação lipídica tecidual sem diferença estatística entre G3-G6 e G2. Disfunção endotelial revertida significativamente em G5 e G6 em relação ao G2.

Conclusão: A pitavastatina, a partir da dose de 0,5mg, foi eficaz em reverter à disfunção endotelial em coelhos hipercolesterolêmicos. (Arq Bras Cardiol. 2014; 103(1):4-12)

Palavras-chave: Inibidores de Hidroximetilglutaril - CoA Redutases; Disfunção Endotelial; Coelhos; Hipercolesterolemia.

Abstract

Background: Pitavastatin is the newest statin available in Brazil and likely the one with fewer side effects. Thus, pitavastatin was evaluated in hypercholesterolemic rabbits in relation to its action on vascular reactivity.

Objective: To assess the lowest dose of pitavastatin necessary to reduce plasma lipids, cholesterol and tissue lipid peroxidation, as well as endothelial function in hypercholesterolemic rabbits.

Methods: Thirty rabbits divided into six groups (n = 5): G1 - standard chow diet; G2 - hypercholesterolemic diet for 30 days; G3 - hypercholesterolemic diet and after the 16th day, diet supplemented with pitavastatin (0.1 mg); G4 - hypercholesterolemic diet supplemented with pitavastatin (0.25 mg); G5 - hypercholesterolemic diet supplemented with pitavastatin (0.5 mg); G6 - hypercholesterolemic diet supplemented with pitavastatin (1.0 mg). After 30 days, total cholesterol, HDL, triglycerides, glucose, creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) were measured and LDL was calculated. In-depth anesthesia was performed with sodium thiopental and aortic segments were removed to study endothelial function, cholesterol and tissue lipid peroxidation. The significance level for statistical tests was 5%.

Results: Total cholesterol and LDL were significantly elevated in relation to G1. HDL was significantly reduced in G4, G5 and G6 when compared to G2. Triglycerides, CK, AST, ALT, cholesterol and tissue lipid peroxidation showed no statistical difference between G2 and G3-G6. Significantly endothelial dysfunction reversion was observed in G5 and G6 when compared to G2.

Conclusion: Pitavastatin starting at a 0.5 mg dose was effective in reverting endothelial dysfunction in hypercholesterolemic rabbits. (Arq Bras Cardiol. 2014; 103(1):4-12)

Keywords: Hydroxymethylglutaryl - CoA Reductase Inhibitors; Endothelial Dysfunction; Rabbits; Hypercholesterolemia.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Eros Antonio de Almeida •

Professor Jorge Nogueira Ferraz, Jardim Chapadão. CEP 13070-120, Campinas, SP – Brasil

E-mail: erosaa@cardiol.br; eros@fcm.unicamp.br

Artigo recebido em 06/01/14; revisado em 04/02/14; aceito em 19/02/14.

DOI: 10.5935/abc.20140090

Introdução

Os inibidores da enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase, as estatinas, são potentes inibidores da biossíntese de colesterol no fígado por bloquear a conversão em mevalonato¹. Estudos clínicos com sinvastatina (4S) e pravastatina (WOSCOPS) demonstraram que as estatinas atuam diminuindo a concentração de colesterol no sangue, reduzindo a incidência de infarto do miocárdio e sua mortalidade^{2,3}.

Com a intenção de correlacionar as reduções da mortalidade com a magnitude da placa de aterosclerose realizaram-se estudos com diferentes produtos comerciais das estatinas. Os estudos MARS⁴ e REGRESS⁵ revelaram que, a par da alteração do perfil lipídico, ocorreram estabilização e regressão da aterosclerose, avaliados pela coronariografia.

Ribeiro Jorge e cols.⁶ em 1994, sugeriram que as estatinas pudessem ter uma ação antioxidante ao verificarem em coelhos hipercolesterolêmicos a melhora da disfunção endotelial desproporcional à redução lipídica, quando tratados com a pravastatina. Esta observação foi reiterada em 1997⁷, quando se estudou a reversão rápida da hipercolesterolemia com estatinas, no mesmo modelo animal. Estes efeitos, além da redução do colesterol conhecidos como pleiotrópicos, referem-se à proteção sobre a função endotelial, ação na inflamação, estabilização da placa aterosclerótica, antitrombótico, entre outros⁸⁻¹⁴.

A pitavastatina é a mais recente estatina disponibilizada no mercado, também conhecida como itavastatina e nisvastatina. Foi desenvolvida em 2003 no Japão, e aprovada em 2009 pelos US Food and Drug Administration dos Estados Unidos da América, sendo a sétima estatina desenvolvida e comercializada^{15,16}. É uma estatina sintética e lipofílica que tem farmacodinâmica e farmacocinética com propriedades distintas de outras estatinas as quais podem oferecer maiores efeitos pleiotrópicos em relação à função endotelial, inflamação, stress oxidativo e antitrombose. É minimamente metabolizada no fígado e, primariamente metabolizada pelas enzimas CYP2C9 e CYP2C8, tendo biodisponibilidade de 80% da dose administrada^{17,18}. A baixa afinidade da pitavastatina pela CYP3A4 reduz interações com outros fármacos metabolizados por esta enzima e podem diminuir manifestações tóxicas¹⁹⁻²¹.

Até o momento não foi encontrado nenhum estudo clínico ou experimental a respeito da pitavastatina na literatura brasileira, sendo objetivo deste estudo verificar a ação dessa estatina, principalmente em reduzir a disfunção endotelial na hipercolesterolemia experimental, assim como definir a menor dose eficaz neste sentido.

Métodos

O protocolo do experimento foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética na experimentação animal (CEEA)-IB-UNICAMP sob no 2528-1.

Os animais foram alimentados com ração padrão na quantidade de 100g ao dia e com a seguinte composição (g/100): Proteínas, 16,00; Carboidratos 45,00; Fibras 20,00; Gordura 5,00 e Cinzas 14,00. Utilizou-se 30 coelhos

machos da raça Nova Zelândia com peso inicial entre 2,0 a 2,5 kg e distribuídos em seis grupos. No grupo considerado controle em relação aos hipercolesterolêmicos (G1) os coelhos foram sacrificados após um mês de dieta padrão e adaptação ao biotério. Os 25 coelhos seguintes receberam a dieta hipercolesterolêmica composta por dieta padrão suplementada de 0,5% de colesterol e 10% de gordura de coco. Com exceção dos animais do grupo controle hipercolesterolêmico (G2), os demais grupos receberam tratamento com pitavastatina (Kowa company, Nagoya, Japão) nos últimos 15 dias, via gavagem, nas doses 0,1 mg/animal/dia (G3), 0,25 mg/animal/dia (G4), 0,5 mg/animal/dia (G5) e 1 mg/animal/dia (G6), respectivamente.

Dosagens bioquímicas

Dosou-se o colesterol plasmático total, HDL (lipoproteínas de alta densidade), triglicérides, glicose, AST (aspartato aminotransferase), ALT (alanina aminotransferase) e creatinoquinase mediante kits enzimáticos (Laborclin, Bioliquid, Pinhais, PR, Brasil) e feitos a leitura em espectrofotômetro (Thermo Spectronic, Genesys 10 uv, Rochester, NY, USA) comprimento de onda 500 nm. A LDL foi calculada pela fórmula de Friedwald.

Colesterol tecidual

No final do experimento os animais foram sacrificados, sendo retirada a aorta torácica. Em segmentos foi dosado o colesterol tecidual, segundo o método de Naito e David²². Resumidamente: os espécimes foram secados e homogeneizados a 4°C em 5 ml de tampão Tris HCL, pH 7.4 acrescido de 0.01 NaNO₃. Os lípides totais extraídos e homogeneizados em 10 vol. de clorofórmio-metanol. O colesterol total extraído foi dosado mediante kits enzimáticos.

Peroxidação lipídica tecidual

Um segmento da aorta torácica foi homogeneizado com ácido tricloroacético (1g de tecido+10 vol. TCA 20%). Após centrifugação foi acrescentado volume de ácido tiobarbitúrico 0.67% e a mistura aquecida a 100°C por 20 minutos. A concentração de malondialdeído foi calculada pela absorbância de 532 nm, utilizando-se coeficiente de extinção de 1.49 x 10⁻⁵ expresso em nmol/mg de tecido x 10⁻⁷⁻²³.

Função endotelial

A função endotelial foi medida em segmentos de aorta torácica de aproximadamente, 5 mm, com o endotélio intacto, suspensos em uma cuba com capacidade de 10 ml, em solução de Krebs-Henseleit a 37° e pH 7.4 e aquecida a 37° C. A solução foi aerada continuamente com mistura de carbogênio, contendo 95% de oxigênio e 5% de gás carbônico. Os segmentos foram montados em dois ganchos de metal ligados a um suporte da cuba e ao transdutor de força (Narco, Narcotrace 40, Texas, USA). Após, deixados em equilíbrio por 60 minutos, com troca da solução de Krebs Henseleit a cada 20 minutos. Os segmentos foram distendidos a uma tensão basal de 1g. Todos os segmentos de aorta foram contraídos com NE (10⁻⁷M) e depois de estabilização, ACh foi adicionada de forma cumulativa (10⁻⁸ a 10⁻⁵ M)^{6,24} e verificado o relaxamento.

Estudo Estatístico

Foi utilizado o Programa Computacional SAS (Statistical Analysis System) for Windows, versão 9.2. SAS Institute Inc, 2002-2008, Cary, NC, USA.

Para comparar os grupos de tratamento através das variáveis coletadas foi utilizada ANOVA com transformação por postos, seguida pelo teste de Tukey, para localização das diferenças. Na comparação da função endotelial para localização das diferenças das concentrações entre os grupos foi utilizado o teste de perfil de contrastes. O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5%.

Resultados

O resultado das médias e desvio padrão dos diferentes parâmetros estudados estão expressos na tabela 1.

A figura 1, referente ao colesterol total no final do experimento, demonstrou que ocorreu diminuição do colesterol total nos grupos G5 (25,8% de redução) e G6 (25,7%) onde os coelhos foram tratados com 0,5 e 1,0mg de pitavastatina, em relação ao grupo hipercolesterolêmico G2, com diferença estatisticamente significativa.

A figura 2, referente à LDL, demonstrou que ocorreu diminuição nos grupos G5 (20,07%) e G6 (26,62%), não havendo diferença estatisticamente significativa em relação ao Grupo G2.

A figura 3, referente à HDL, demonstrou que ocorreu diminuição nos grupos G3 (40,88%), G5 (56,68%) e G6 (56,53%) em relação ao G2, com diferença estatisticamente significativa.

A figura 4, referente aos triglicérides, demonstrou que ocorreu diminuição nos grupos G3 (44,62%), G4 (33,53%), G5 (52,05%),

Tabela 1 – Resultados dos grupos G1 a G6 com suas médias e desvio padrão

	G1	G2	G3	G4	G5	G6
Col (mg/dL)	63,6 ± 4,3	753,9 ± 32,0	650,5 ± 212,5	705,3 ± 164,0	559,6 ± 203,6	527,6 ± 100,9
HDL	16,5 ± 3,7	61,4 ± 8,8	*36,3 ± 15,0	*25,2 ± 10,9	*26,6 ± 12,5	*26,7 ± 5,7
LDL	26,6 ± 3,9	650,0 ± 33,3	599,7 ± 196,3	663,0 ± 161,1	519,6 ± 202,3	477,7 ± 103,4
Trig	104,2 ± 16,2	212,5 ± 99,9	117,7 ± 32,9	141,2 ± 36,5	101,9 ± 22,5	115,7 ± 15,0
Glicose	115,8 ± 19,2	127,3 ± 28,9	114,6 ± 25,5	123,5 ± 21,6	119,8 ± 23,7	94,7 ± 26,2
Col tec	21,6 ± 4,9	28,7 ± 4,8	22,8 ± 2,0	29,1 ± 7,8	20,4 ± 5,6	22,7 ± 4,5
Perox	5,1 ± 0,6	8,0 ± 1,9	5,7 ± 1,6	5,3 ± 1,4	5,9 ± 1,2	5,5 ± 1,4
Rel Máx (%)	93,2 ± 6,7	60,2 ± 12,64	62,3 ± 12,1	61,3 ± 11,7	*80,40 ± 5,1	*79,8 ± 12,0
Cknac	236,1 ± 79,9	354,0 ± 62,3	243,8 ± 89,0	200,5 ± 88,7	336,1 ± 135,2	298,3 ± 118,6
AST	35,7 ± 15,4	25,9 ± 8,3	50,0 ± 24,5	22,7 ± 8,3	30,0 ± 9,1	34,7 ± 10,8
ALT	20,3 ± 11,2	25,1 ± 6,7	37,2 ± 18,6	36,1 ± 13,8	*18,3 ± 6,1	30,1 ± 6,8

Col: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; Trig: triglicérides; Gl: glicose; Col tec: colesterol tecidual; Perox: peroxidação tecidual (ng/mg de proteína); Rel Máx (%): função endotelial; Cknac: creatinofosfoquinase; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase. * p < 0,05 em relação a G2.

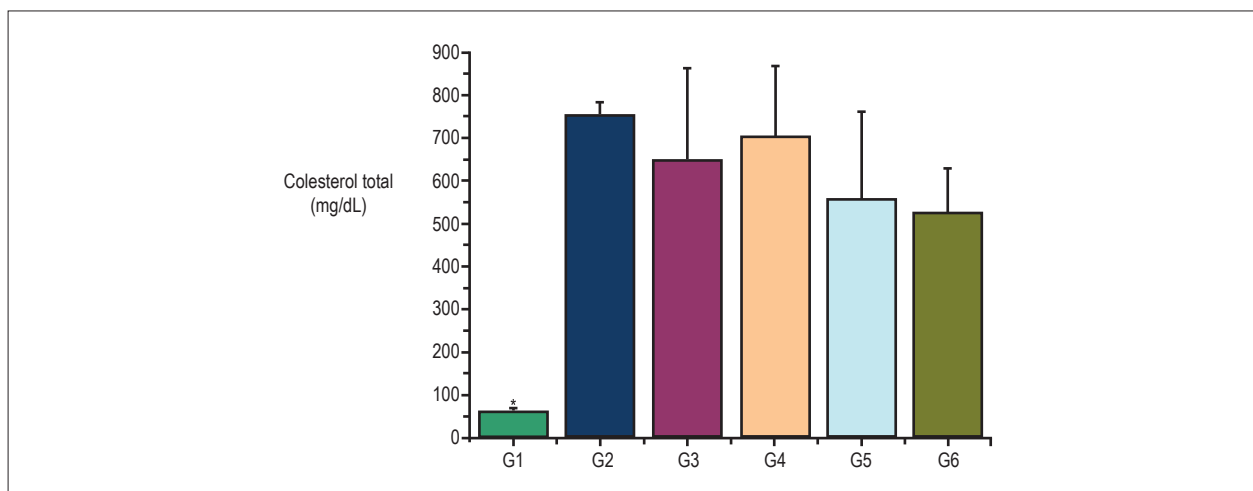


Figura 1 – Colesterol total em todos os grupos expressos como média e desvio padrão.
* p < 0,05 em relação ao G2.

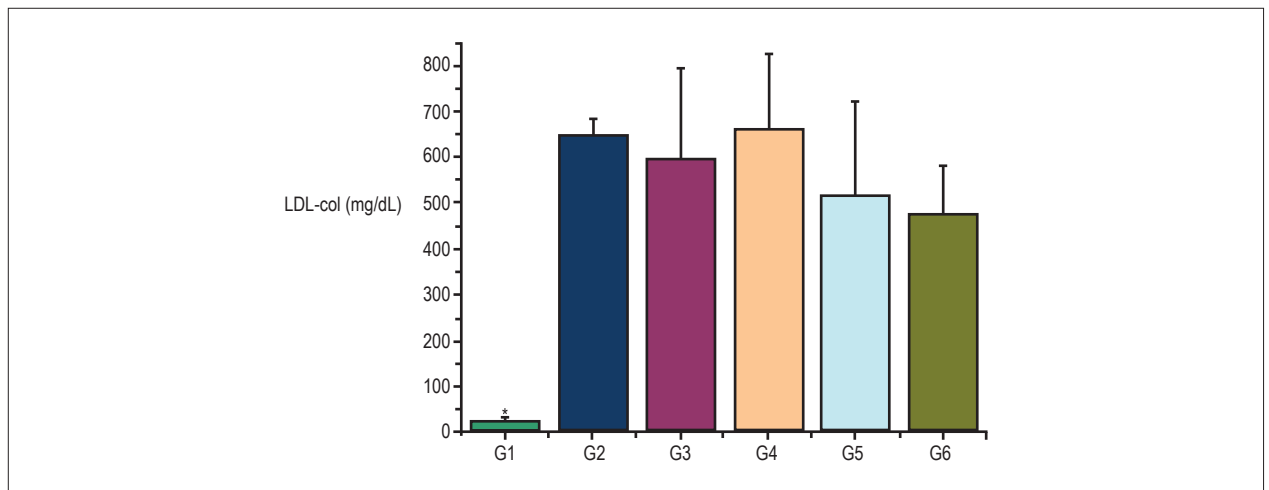


Figura 2 – LDL-col em todos os grupos expressos em média e desvio padrão.
* $p < 0,05$ em relação ao G2.

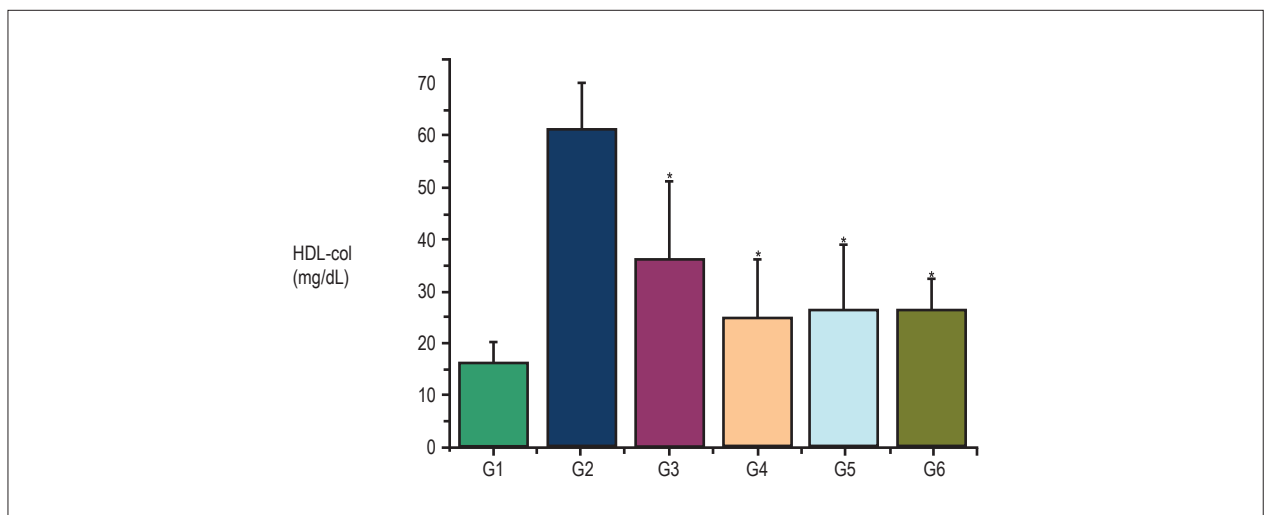


Figura 3 – HDL-col em todos os grupos expressos em média e desvio padrão.
* $p < 0,05$ em relação ao G2.

G6 (45,56%), porém sem diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo G2.

A figura 5, referente ao colesterol tecidual, demonstrou diminuição nos grupos G5 (28,2%) e G6 (20,09%), porém sem diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo G2.

A figura 6, referente a peroxidação lipídica, demonstrou diminuição nos grupos G5 (26,25%) e G6 (31,25%), porém sem diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo G2.

A figura 7 demonstrou que ocorreu melhora da função endotelial nos grupos G5 e G6 em relação ao grupo G2, sendo estatisticamente significativa.

Em relação à glicose, creatinoquinase, AST e ALT não ocorreram alterações estatisticamente significantes entre os grupos (tabela 1).

Discussão

As estatinas têm vários representantes disponíveis no mercado farmacêutico, agindo através da inibição da 3-hidroxy-3-metilglutaril coenzima A HMGC_oA redutase, o que as tornam membros de um grupo de fármacos classe específica, todas com a indicação precisa na redução da hipercolesterolemia. Modificações farmacocinéticas e farmacodinâmicas moleculares têm-se sido realizadas no intuito de diferenciar as estatinas, buscando quase sempre a maior eficácia no bloqueio da HMGC_oA redutase e, conseqüentemente, melhor controle dos lípidos plasmáticos, mas também, com a finalidade de individualização do medicamento, além de sua qualidade genérica. Assim, a pitavastatina é a mais recente estatina

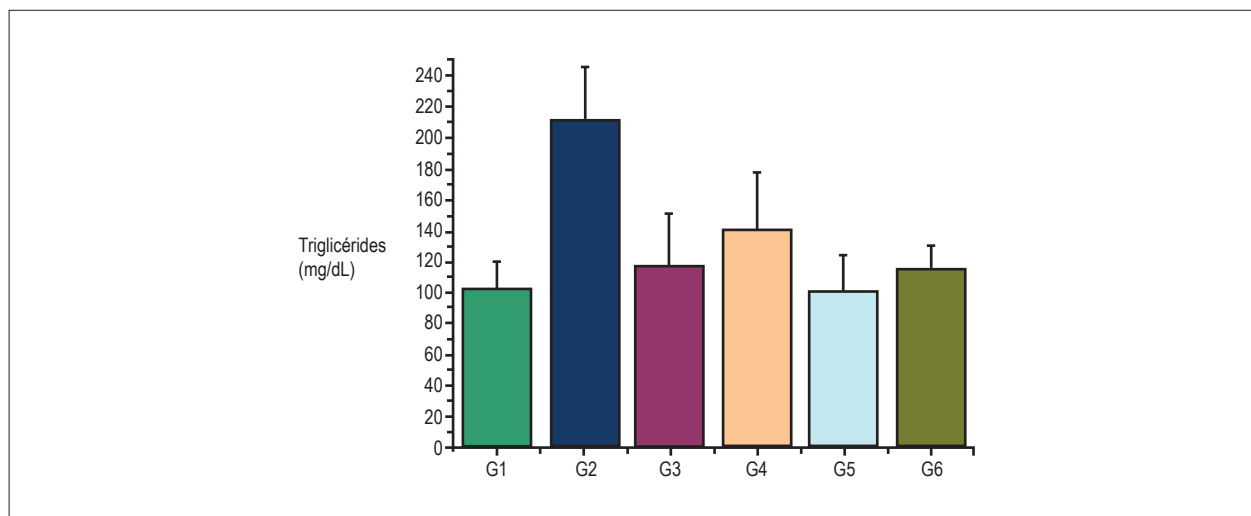


Figura 4 – Triglicérides em todos os grupos expressos em média e desvio padrão.

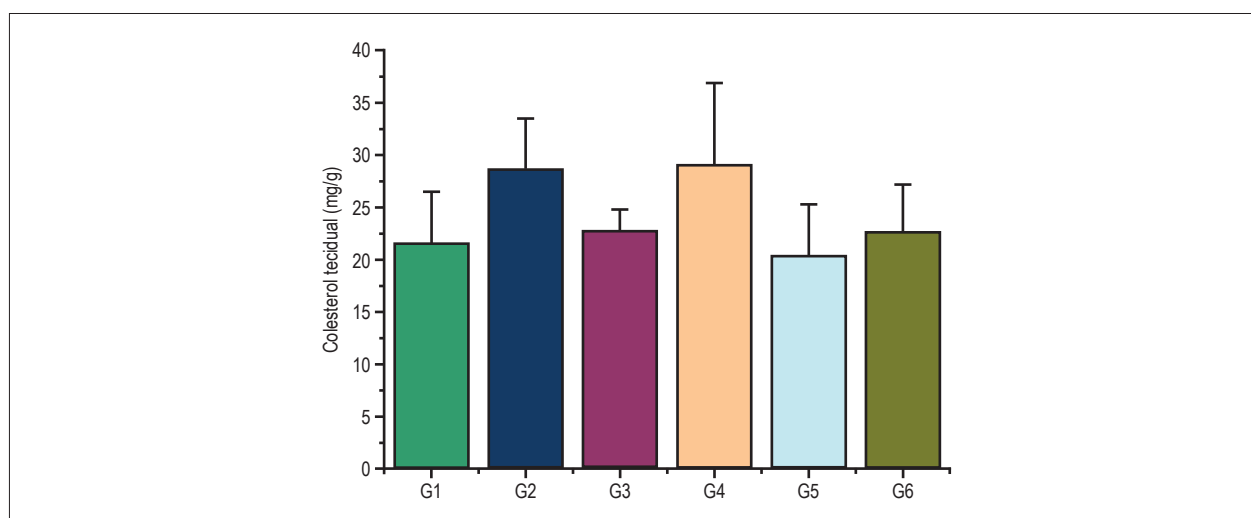


Figura 5 – Colesterol tecidual em todos os grupos expressos em média e desvio padrão.

disponível no mercado, a partir de 2003 no Japão e, atualmente, no Brasil²⁵. Até onde conhecemos, este se constitui no primeiro estudo experimental disponível na literatura brasileira, até o momento, em que se avaliam as ações da pitavastatina nos lípides plasmáticos e tecidual, na peroxidação lipídica e na reatividade vascular, procurando se identificar a menor dose em que ela possa ser eficaz no controle destes parâmetros. Também, estudos clínicos ainda não foram publicados na literatura nacional, abordando os diferentes aspectos envolvendo a pitavastatina.

A adição de gordura na ração padrão para alimentação de coelhos tem sido o modelo mais utilizado na indução de hipercolesterolemia experimental e se mostrou eficaz no presente estudo. Os resultados observados na Tabela 1 demonstraram que os animais do grupo G2 apresentaram elevações dos lípides plasmáticos significativamente superiores

aos do grupo G1, alimentados com dieta padrão. O mesmo ocorreu com os parâmetros teciduais, observando-se elevações do colesterol e peroxidação lipídica e redução da função endotelial em segmentos da aorta.

A dose de pitavastatina propostas para uso em humanos varia de 1 a 2 mg/dia, com máximo de 4 mg/dia, sendo que em estudos experimentais a dose tem sido utilizada sempre abaixo de 1mg/kg/dia, não havendo relatos de grupos de animais com doses progressivas como no presente trabalho^{19,26,27}. As doses de pitavastatina utilizadas no presente estudo, embora abaixo da menor utilizada no homem, são altas para o coelho em vista das diferenças entre as espécies, principalmente o peso. No entanto, são necessárias para se conseguir o efeito redutor do colesterol nestes animais, o que se observou apenas a partir de 0,5 mg/animal. Provavelmente, diferenças no

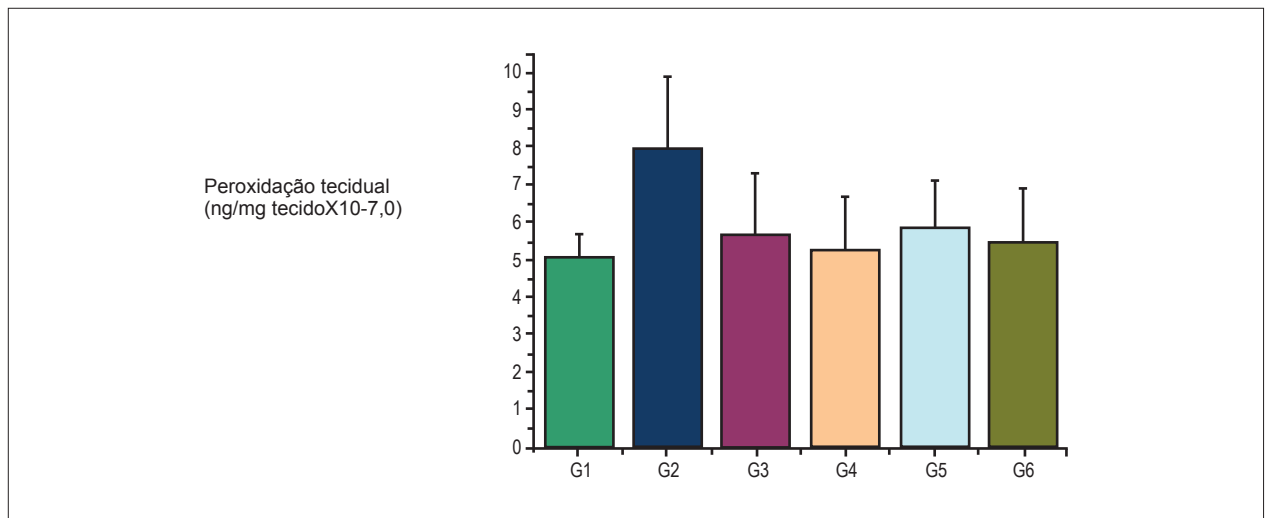


Figura 6 – Peroxidação tecidual em todos os grupos expressos em média e desvio padrão.

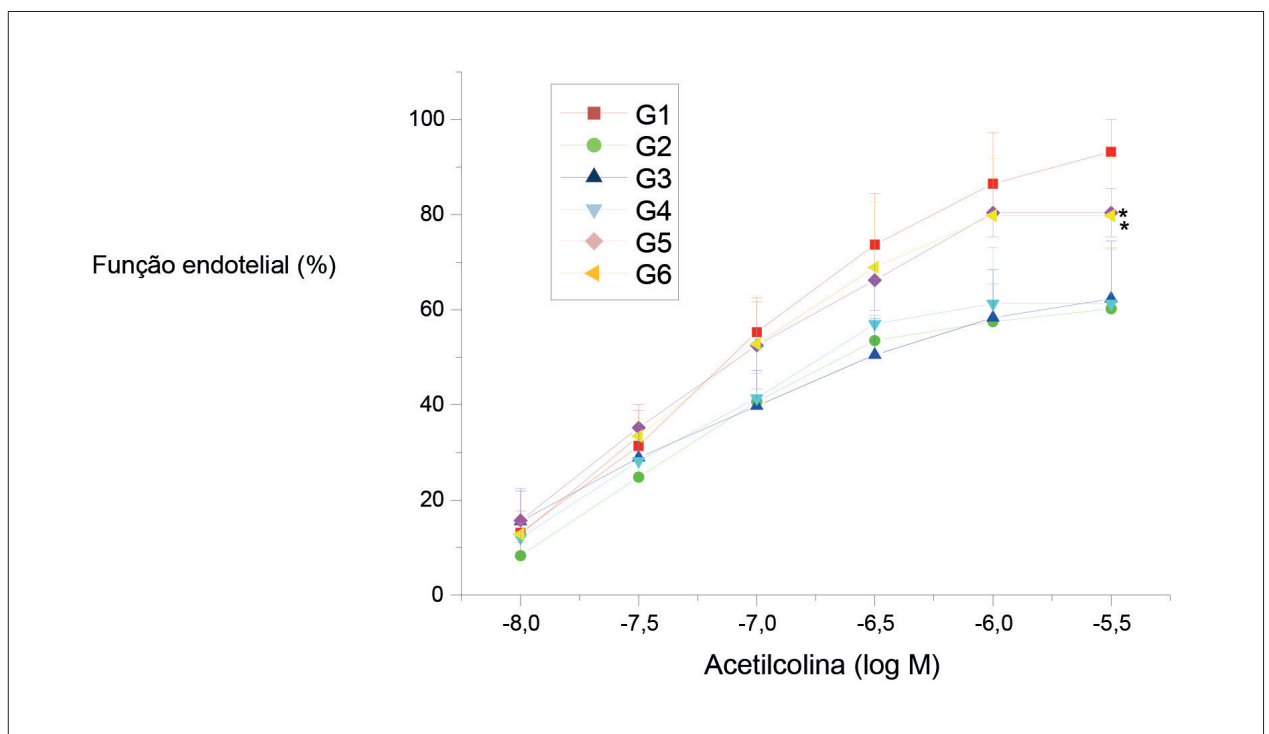


Figura 7 – Função endotelial em todos os grupos expressa em média e desvio padrão.
* $p < 0,05$ em relação ao G2.

metabolismo entre as espécies possam explicar o porquê de altas doses não serem tóxicas ou letais a algumas delas. Não só as doses foram diferentes em agir sobre os lípidos, mas também o tempo de uso. No presente estudo, apenas 15 dias do medicamento foram suficientes para a ação hipolipemiante da pitavastatina, enquanto outros estudos utilizaram, no mínimo, 12 semanas¹⁹. Estes dados são semelhantes a aqueles observados em estudo utilizando-se

outras estatinas, quando são otimizadas doses para uma mesma porcentagem de redução do colesterol total²⁸. Estudo clínico demonstrou que a pitavastatina melhora a função da microvasculatura periférica, verificada por hiperemia reativa medida através de tonometria arterial, em indivíduos hipercolesterolêmicos portadores de doença arterial coronariana, apenas após duas horas da administração oral do fármaco, demonstrando a

rapidez de ação na melhora da função endotelial, independentemente da ação no colesterol plasmático²⁹.

Os resultados observados na Tabela 1 e Figura 7 demonstraram que a pitavastatina foi eficaz em melhorar a reatividade vascular, uma vez que houve melhora significativa da disfunção endotelial nos grupos tratados em relação ao grupo hipercolesterolêmico. No entanto, isto ocorreu apenas a partir da dose de 0,5 mg, significando que doses inferiores são incapazes de surtir o mesmo efeito, no tempo utilizado no experimento. Resultados semelhantes na reversão da disfunção endotelial pela pitavastatina têm sido relatados em outros estudos experimentais¹⁹ e em humanos²⁹, sem grandes diferenças daqueles observados, quando avaliadas outras estatinas^{28,30-32}. A melhora na disfunção endotelial não pode ser determinada apenas pela redução da LDL, embora esta redução tenha ocorrido, como observado na Tabela 1 e Figura 2, porque os valores absolutos ainda se mantiveram muito superiores ao grupo G1, não hipercolesterolêmico. No entanto, a porcentagem do relaxamento se aproximou muito do grupo G1. O estresse oxidativo envolvendo a LDL na hipercolesterolemia tem sido responsabilizado pela disfunção endotelial observado nestas situações e foi um dos objetivos deste estudo. Mesmo sem controle total da hipercolesterolemia, mas reduzindo-se o estresse oxidativo, pode-se conseguir a reversão da disfunção endotelial. Isto tem sido produzido pelas estatinas e ocorreu com a pitavastatina, como observado nos resultados, uma vez que houve diminuição da peroxidação lipídica tecidual em relação ao grupo G2, nos grupos tratados. Estreitamente relacionado a estas duas situações, melhora da disfunção endotelial e redução da oxidação lipídica, encontra-se a redução do colesterol tecidual, como observado na Tabela 1 e Figura 5 e, também, em estudos anteriores^{28,30-32}. No entanto, a redução da peroxidação lipídica e colesterol tecidual ocorreram de forma semelhante em todos os grupos tratados, ao contrário da reversão da disfunção endotelial, a qual foi observada apenas nos grupos em que os animais receberam doses maiores da pitavastatina (G5 e G6). Em um estudo da literatura utilizando o mesmo modelo experimental²⁶ objetivou-se avaliar a ação da pitavastatina e probucol na progressão da aterosclerose, estudando-se o estresse oxidativo, tomando-se como parâmetros a superóxido dismutase e a expressão da proliferação da atividade de receptores de peroxisomo (PPARs). Os autores observaram que na dose de 0,05mg/kg/dia a pitavastatina foi eficaz em reduzir o estresse oxidativo sem qualquer ação nos níveis séricos do colesterol. Assim, depreende-se que a pitavastatina age em outros mecanismos que possam explicar os resultados obtidos no presente estudo, justificando a redução da peroxidação lipídica, sem alterar os níveis de colesterol plasmático. Assim, a reversão da disfunção endotelial possa depender de outros fatores, além daqueles oxidativos, necessitando de doses maiores da pitavastatina para ocorrer.

Uma das características marcantes da pitavastatina, observada do ponto de vista clínico, é sua ação em elevar a HDL, principalmente nos indivíduos em que esta se encontra reduzida^{33,34}. O principal mecanismo pelo qual esta estatina se torna superior a outras em elevar os níveis de HDL é a capacidade em aumentar a expressão do gene

da ApoA-1, através da ativação dos PPARs³⁵, considerado o maior regulador intra e extracelular do metabolismo dos ácidos graxos, aumentando sua secreção. No presente estudo houve redução da HDL, acompanhando a queda do colesterol total e da LDL. A pitavastatina não determinou o aumento ou impediu a redução da HDL, como observado em estudos clínicos. Em outro estudo experimental em coelhas ooforectomizadas¹⁹ hipercolesterolêmicas, os autores não encontraram modificações significantes na HDL e triglicérides. Estes resultados em relação a HDL têm sido observados na literatura com outras estatinas^{30,32}, não sendo objetivo de nenhum deles especificar os mecanismos pelos quais estes animais apresentam este comportamento. Diferenças no metabolismo lipídico entre as espécies que justifiquem estes resultados devam existir, devendo ser objetivos de futuras pesquisas, no intuito de melhor entendimento deste fenômeno.

Os resultados observados em relação aos triglicérides (Tabela 1 e Figura 4), com diminuição significativa nos grupos tratados demonstram a eficácia da pitavastatina neste sentido, já observado em outros estudos experimentais^{19,27}, o que tornaria esta estatina eleita para tratamento de indivíduos hipercolesterolêmicos, também com hipertrigliceridemia, principalmente diabéticos.

Ações das estatinas, além daquelas dependentes da redução do colesterol e LDL, são conhecidas na literatura^{12,14}. Estes efeitos, conhecidos como pleiotrópicos, têm sido geralmente benéficos ao reduzir a oxidação lipídica, reverter à disfunção endotelial, como demonstrado no presente estudo, além de bloquear processos inflamatórios, entre outros, culminando na interrupção da progressão da aterosclerose e, conseqüentemente, dos eventos clínicos. No entanto, ultimamente tem sido observado que estes efeitos pleiotrópicos, também, podem ser deletérios ao organismo, principalmente em relação ao metabolismo glicêmico³⁵. Embora em estudos clínicos existam controvérsias em relação ao evento adverso das estatinas em induzir diabetes, uma vez que no estudo WOSCOPS³ a pravastatina preveniu o aparecimento desta e no estudo JUPITER³⁶, a rosuvastatina induziu, evidências experimentais são consistentes que as estatinas podem prejudicar a homeostase glicêmica³⁷. No presente estudo não houve qualquer modificação nos níveis glicêmicos dos grupos tratados em relação aos controles. Embora estudos experimentais envolvendo a pitavastatina e eventos adversos relacionados ao metabolismo glicídico não tenham sido realizados, estudos clínicos comparando-a as outras estatinas têm demonstrado que o surgimento de diabetes nos usuários tem sido significativamente menor, principalmente, em relação à atorvastatina e rosuvastatina, e comparáveis à pravastatina³⁸. Também, este evento tem ocorrido quando doses maiores das estatinas tenham sido utilizadas, o que talvez justifique os resultados do presente estudo, no qual foram usadas doses menores do fármaco. O mesmo ocorreu em relação as enzimas hepáticas e à creatinoquinase, as quais não apresentaram modificações nos grupos tratados com a pitavastatina em relação aos controles, demonstrando que as doses utilizadas foram seguras (Tabela 1). O mesmo já foi relatado na literatura neste sentido³⁹.

Conclusão

A pitavastatina foi eficaz em reduzir os lípides plasmáticos, a peroxidação lipídica e colesterol tecidual, revertendo à disfunção endotelial em coelhos hipercolesterolêmicos, a partir da dose de 0,5 mg.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa e Análise e interpretação dos dados: Almeida EA, Ozaki MR; Obtenção de dados e Redação do manuscrito: Ozaki MR; Obtenção de financiamento e Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Almeida EA.

Referências

1. Goldstein JL, Brown MS. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature*. 1990;343(6257):425-30.
2. Randomized trial of cholesterol lowering in 4,444 patients with coronary heart disease: Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. *Lancet*. 1994;344(8394):1383-9.
3. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, MacFarlane PW, et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS). *N Engl J Med*. 1995;333(20):1301-7.
4. Blankenhorn DH, Azen SP, Krams DM, Mack WJ, Cashin-Hemphill I, Hodis HN, et al; MARS Research Group. Coronary angiographic changes with lovastatin therapy. The monitored regression study. *Ann Intern Med*. 1993;119(10):969-76.
5. Jukema JW, Bruschke AV, van Boven AJ, Ruber JH, Bal ET, Zwinderman AH, et al. Effects of lipid lowering by pravastatin on progression and regression of coronary artery disease in symptomatic men with normal to moderately elevated serum cholesterol levels. The Regression Growth Evaluation Statin Study (REGRESS). *Circulation*. 1995;91(10):2528-40.
6. Ribeiro Jorge PA, Ozaki MR, Metzke K. Effects of simvastatin and pravastatin on endothelium-dependent relaxation in hypercholesterolemic rabbits. *Exp Toxicol Pathol*. 1994;46(6):465-9.
7. Ribeiro Jorge PA, Neyra LC, Ozaki MR, de Almeida EA. Rapid reversal of endothelial dysfunction in hypercholesterolaemic rabbits treated with simvastatin and pravastatin. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1997;24(12):948-53.
8. Molcányivá A, Stancakova A, Jacorský M, Tkac I. Beneficial effect of simvastatin treatment on LDL oxidation and antioxidant protection is more pronounced in combined hyperlipidemia than in hypercholesterolemia. *Pharmacol Res*. 2006;54(3):203-7.
9. Morita H, Saito Y, Ohashi N, Yoshikawa M, Kato M, Ashida T, et al. Fluvastatin ameliorates the hyperhomocysteinemia-induced endothelial dysfunction: the antioxidative properties of fluvastatin. *Circ J*. 2005;69(4):475-80.
10. Moutzouri E, Liberopoulos EN, Tellis CC, Milionis HJ, Tselepis AD, Elisaf MS. Comparison of the effect of simvastatin versus simvastatin/ezetimibe versus rosuvastatin on markers of inflammation and oxidative stress in subjects with hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2013;231(1):8-14.
11. Carnevale R, Pignatelli P, Di Santo S, Bartimoccia S, Sanguigni V, Napoleone L, et al. Atorvastatin inhibits stress oxidative via adiponectin-mediated NADP oxidase down-regulation in hypercholesterolemic patients. *Atherosclerosis*. 2010;213(1):225-34.
12. Khemasuwan D, Chae YK, Gupta S, Carpio A, Yun JH, Neagu S, et al. Dose related effect of statins in venous thrombosis risk reduction. *Am J Med*. 2011;124(9):852-9.
13. Arai H, Hiro T, Kimura T, Morimoto T, Miyauchi K, Nakagawa Y, et al; JAPAN ACS Investigators. More intensive lipid lowering is associated with regression of coronary atherosclerosis in diabetic patients with acute coronary syndrome sub analysis of JAPAN-ACS study. *J Atheroscler Tromb*. 2010;17(10):1096-107.
14. Kouromichakis I, Papanas N, Proikaki S, Zarogoulidis P, Maltezos E. Statins in prevention and treatment of severe sepsis and septic shock. *Eur J Intern Med*. 2011;22(2):125-33.
15. Kajinami K, Mabuchi H, Saito Y. NK-104: a novel synthetic HMG-CoA reductase inhibitor. *Expert Opin Investig Drugs*. 2000;9(11):2653-61.
16. Saito Y, Yamada N, Teramoto T, Itakura H, Hata Y, Nakaya N, et al. Clinical efficacy of pitavastatin, a new 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor, in patients with hyperlipidemia: dose-finding study using the double blind, three-group parallel comparison. *Arzneimittelforschung*. 2002;52(4):251-5.
17. Fujino HI, Yamada I, Kojima J, Hirano M, Matsumoto H, Yoneda M. Studies on the metabolic fate of NK-104, a new inhibitor of HMG-CoA reductase. (5). In vitro metabolism and plasma protein binding in animals and human. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 1999;14(6):415-24.
18. Fujino H, Saito T, Tsunerari Y, Kojima J. Effect of gemfibrozil on the metabolism of pitavastatin -- determining the best animal model for human CYP and UGT activities. *Drug Metabol Drug Interact*. 2004;20(1-2):25-42.
19. Hayashi T, Rani P, Fukatsu A, Matsui-Hirai H, Osawa M, Miyazaki A, et al. A new HMG-CoA reductase inhibitor, pitavastatin remarkably retards the progression of high cholesterol induced atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*. 2004;176(2):255-63.
20. Sakaeda T, Fujino H, Komoto C, Kakumoto M, Jin JS, Iwaki K, et al. Effects of acid and lactone forms of eight HMG-CoA reductase inhibitors on CYP-mediated metabolism and MDR1-mediated transport. *Pharm Res*. 2006;23(3):506-12.
21. Kitahara M, Kanaki T, Ishii I, Saito Y. Atherosclerosis induced by chronic inhibition of nitric oxide in moderately hypercholesterolaemic rabbits is suppressed by pitavastatin. *Br J Pharmacol*. 2010;159(7):1418-28.
22. Naito HK, David JA. Laboratory considerations: determination of cholesterol, triglycerides, phospholipid and others lipids in blood and tissues. *Lab Res Methods Biol Med*. 1984;10:1-76.
23. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Method Enzymol*. 1978;52:302-10.
24. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288(5789):373-6.

25. Kawai Y, Sato-Ishida R, Motoyama A, Kajinamia K. Place of pitavastatin in the statin armamentarium: promising evidence for a role in diabetes mellitus. *Drug Des Devel Ther.* 2011;5:283-97.
26. Umeji K, Umemoto S, Itoh S, Tanaka M, Kawahara S, Fukai T, et al. Comparative effects of pitavastatin and probucol on oxidative stress, Cu/Zn superoxide dismutase, PPAR- γ and aortic stiffness in hypercholesterolemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;291(5):H2522-32.
27. Suzuki H, Yamazaki H, Aoki K, Kojima J, Tamaki T, Sato F, et al. Lipid lowering and antiatherosclerotic effect of NK-104, a potent 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor, in Watanabe Heritable hyperlipidemic rabbits. *Arzneimittelforschung.* 2000;50(11):995-1003.
28. Ribeiro Jorge PA, Almeida EA, Ozaki MR, Jorge M, Carneiro A. Efeitos da atorvastatina, fluvastatina, pravastatina e simvastatina sobre a função endotelial, a peroxidação lipídica e a aterosclerose aórtica em coelhos hipercolesterolêmicos. *Arq Bras Cardiol.* 2005;84(4):314-9.
29. Kono Y, Fukuda S, Shimada K, Nakanishi K, Otsuka K, Kubo T, et al. Very rapidly effect of pitavastatin on microvascular function in comparison with rosuvastatin: reactivity hyperemia peripheral arterial tonometric study. *Drug Des Devel Ther.* 2013;7:369-74.
30. Almeida EA, Hernandez DB, Ozaki MR, Nunes WR. Endothelial function, lipid peroxidation, plasmatic and tissue cholesterol evolutions in mixed dyslipidemia in rabbits treated with rosuvastatin and atorvastatin. *Clin Inv Atheroscl.* 2009;21(6):263-7.
31. Almeida EA, Ozaki MR, Ribeiro Jorge PA. Effects of fluvastatin on lipid peroxidation and endothelial dysfunction in hypercholesterolemic rabbits. *J Bras Soc Intern Med.* 2004;2(3):63-71.
32. Ozaki MR, de Almeida EA. Evolution and involution of atherosclerosis and its relationship with vascular reactivity in hypercholesterolemic rabbits. *Exp Toxicol Pathol.* 2013;65(3):297-304.
33. Kurihara Y, Kawakita K, Douzono T, et al. A large-scale, long-term, prospective post-marketing surveillance of pitavastatin (LIVALO_® tablet): LIVALO effectiveness and safety (LIVES) study. *Jpn Pharmacol Ther.* 2008;36(8):709-31.
34. Walley T, Folino-Gallo P, Schwabe U, van Ganse E; EuroMedStat group. Variations and increase in use of statins across Europe: data from administrative databases. *BMJ.* 2004;328(7436):385-6.
35. Kostapanos MS, Milionis JH, Elisaf MS. An overview of the extra-lipid effects of rosuvastatin. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2008;13(3):157-74.
36. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM, et al; JUPITER Study Group. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein (JUPITER) *N Engl J Med.* 2008;359(21):2195-207.
37. Kostapanos MS, Liasis GL, Milionis HJ, Elisaf MS. Do statins beneficially or adversely affect glucose homeostasis? *Curr Vasc Pharmacol.* 2010;8(5):612-31.
38. Navarese EP, Buffon A, Andreotti F, Kozinski M, Welton N, Fabiszak T, et al. Meta-analysis of impact of different types and doses of statins on new-onset diabetes mellitus. *Am J Cardiol.* 2013;111(8):1123-30.
39. Kitahara M, Kanaki T, Toyoda K, Miyakoshi C, Tanaka S, Tamaki T, et al. NK-104, a newly developed HMG-CoA reductase inhibitor, suppresses neointimal thickening by inhibiting smooth muscle cell growth and fibronectin production in balloon-injured rabbit carotid artery. *Jpn J Pharmacol.* 1998;77(2):117-28.