



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA GENERALISTA**

**CHRISTIANE ALVES CARDOSO**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO USO ISOLADO E COMBINADO DO ACIDO  
LIPOICO E SINVASTATINA EM ANIMAIS**

**CAMPINA GRANDE – PB  
2014**

**CHRISTIANE ALVES CARDOSO**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO USO ISOLADO E COMBINADO DO ACIDO  
LIPOICO E SINVASTATINA EM ANIMAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao Curso de Graduação em **Farmácia  
Generalista** da Universidade Estadual da  
Paraíba, em cumprimento à exigência para  
obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Mônica Oliveira Silva  
Simões

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

C268a Cardoso, Christiane Alves.

Avaliação da toxicidade do uso isolado e combinado do ácido lipóico e sinvastatina em animais [manuscrito] / Christiane Alves Cardoso. - 2014.

31 p. : il.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2014.

"Orientação: Profa. Dra. Mônica Oliveira Silva Simões, Departamento de Farmácia".

1. Sinvastatina. 2. Ácido lipóico. 3. Função hepática. 4. Função renal. I. Título.

21. ed. CDD 615.1

**CHRISTIANE ALVES CARDOSO**

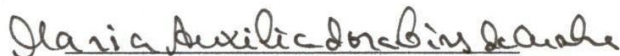
**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO USO ISOLADO E COMBINADO DO ACIDO  
LIPOICO E SINVASTATINA EM ANIMAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao Curso de Graduação em **Farmácia  
Generalista** da Universidade Estadual da  
Paraíba, em cumprimento à exigência para  
obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

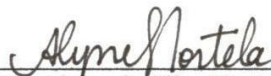
Aprovada em 30/04/2014.



Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Mônica Oliveira Silva Simões / UEPB  
Orientadora



Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Maria Auxiliadora Lins da Cunha / UEPB  
Examinadora



Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Alyne da Silva Portela / FCM  
Examinadora

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho à minha família, especialmente aos meus pais, pelo apoio incondicional. Aos meus amigos pelo simples fato de estarem sempre ao meu lado. A minha orientadora que acreditou em mim e por sempre estar disposta a ensinar. E a todos que fizeram parte dessa caminhada.

## AGRADECIMENTOS

A Deus dedico o meu agradecimento maior, porque tem sido responsável por tudo em minha vida.

A minha querida mãe Zélia Alves Cardoso, que no decorrer de minha vida me proporcionou amor, conhecimentos de integridade e de perseverança. Que lutou comigo, muitas vezes, até abdicando de seus desejos, para que os meus pudessem ser concretizados. E esteve comigo em todos os momentos. A minha formação não teria sido possível sem o seu apoio. Dedico também, ao meu querido pai, Antônio Cardoso Taveira (*in memoriam*), que dedicou sua vida para que os filhos tivessem todo amor e educação. E com certeza, está muito orgulhoso por esta conquista. Por isso, quero dedicar à vocês minha imensa gratidão.

Agradeço à minha orientadora Dr<sup>a</sup> Mônica Simões, que acreditou no meu trabalho e me mostrou o caminho para que eu possa buscar ser uma profissional reconhecida. Tenho muito orgulho de ter estado ao seu lado e poder compartilhar o conhecimento. Agradeço imensamente porque esse trabalho foi fruto da confiança que depositou em mim. Muitos momentos foram marcantes durante esses 5 anos, mas aqueles mais importantes foram quando estive no grupo de pesquisa com Estresse Oxidativo. E lembrarei sempre do dia em que estive mais angustiada e ela esteve ao meu lado, rezando para que tudo desse certo. Mostrou-me como podemos ser pessoas melhores, foram momentos grandiosos.

Agradeço também a professora Dr<sup>a</sup> Alyne Portela, por todos os ensinamentos de vida, bem como toda colaboração e auxílio científico que me foi dado no grupo de Pesquisa.

Um agradecimento especial aos meus irmãos e aos meus sobrinhos, por sempre me apoiarem e estarem do meu lado, inclusive nos momentos ruins; ao meu amor, Rafael Borba, que além de me fazer feliz, ajudou-me durante o percurso de minha vida acadêmica, compreendendo-me e ensinando-me. À minha querida tia Maria Tânia, que foi uma das pessoas que mais me encorajou inicialmente, para que eu tivesse a oportunidade de buscar melhores caminhos.

Agradeço àquelas que fazem parte do Laboratório de Bioquímica da UEPB, prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Auxiliadora, Katharina Porto e Camila Pinheiro, por todo apoio durante as análises bioquímicas.

Aos meus maravilhosos amigos que sempre me deram atenção, carinho, preciosos conselhos, alegria e que nunca deixaram de acreditar no meu potencial. Amo muito vocês.

À minha turma de Farmácia UEPB 2009.2, em especial a Anna Nóbrega, Tatiany, Danielle e Nathaly, por terem sido anjos em minha vida e estarem dispostos a me ajudar sempre.

Às instituições de ensino, Universidade Estadual da Paraíba pela disponibilidade dos laboratórios: Laboratório de Pesquisa em Bioquímica Clínica, e Laboratório de Análises Clínicas. E a Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande pela disponibilização do uso do Biotério durante a pesquisa.

Agradeço a todos aqueles que direta ou indiretamente, contribuíram para esta imensa felicidade que estou sentindo neste momento.

# AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO USO ISOLADO E COMBINADO DO ÁCIDO LIPOICO E SINVASTATINA EM ANIMAIS

CARDOSO, Christiane Alves<sup>1</sup>

## RESUMO

**Introdução:** As estatinas são consideradas os medicamentos de escolha no tratamento de distúrbios lipídicos. Contudo, podem levar a alguns efeitos indesejáveis como a alteração da concentração das transaminases hepáticas. Acredita-se que o aumento da morte celular e o dano oxidativo têm papel importante no desenvolvimento das lesões envolvidas. Por outro lado, o ácido lipóico (AL) é considerado o anti-inflamatório e antioxidante protetor das células mais potente já descoberto e é amplamente utilizado na terapia de diversas doenças crônicas associadas ao estresse oxidativo. Dessa forma, a suplementação com antioxidantes surge como estratégia promissora no controle dos fatores de risco associados a diversas patologias. **Objetivo:** Avaliar a toxicidade do uso isolado e combinado do AL e da sinvastatina em animais, por intermédio da quantificação de marcadores das funções hepática e renal. **Metodologia:** Foram utilizados ratos machos da raça Wistar, os quais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos: controle, sem intervenção; AL, que recebeu 100 mg/Kg/dia; sinvastatina, que recebeu 2 mg/Kg/dia; e o grupo que recebeu AL associado a sinvastatina, todos durante 8 semanas. Foram avaliados os dados laboratoriais de 24 animais, através da dosagem dos marcadores de função hepática, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) e da função renal, creatinina e ureia. **Resultados:** Dos marcadores estudados, apenas a ureia apresentou alteração de acordo com os valores de referência adotados. A avaliação intergrupo do marcador ALT mostrou elevação estatisticamente significativa ( $p=0,026$ ), em relação ao controle, sendo que após a intervenção o grupo AL + sinvastatina apresentou maior redução nesse parâmetro. A avaliação entre os grupos para AST também mostrou alteração significativa ( $p=0,001$ ), sendo observada após a intervenção redução no grupo tratado com sinvastatina isoladamente. Alteração significativa ( $p=0,016$ ) também foi observada para creatinina, cujo grupo que apresentou maior redução, após a intervenção, foi o tratado com AL isolado. Não foi observada alteração estatisticamente significativa para ureia. **Conclusão:** Nesse estudo foi observada alteração das transaminases hepáticas, confirmando os relatos encontrados na literatura. E redução nos níveis de creatinina e ureia. Dessa forma, se sugere que não houve toxicidade renal após a administração do AL isolado ou em associação com a sinvastatina. Além disso, a alteração dos marcadores após a intervenção pode indicar que houve melhoria na função desses órgãos. Contudo, estudos adicionais são necessários para que se possam avaliar os efeitos destas substâncias sobre as funções hepáticas e renais, com um número maior de animais, bem como sobre os marcadores de estresse oxidativo e da atividade inflamatória.

**PALAVRAS-CHAVE:** Sinvastatina. Ácido lipóico. Função hepática. Função renal

<sup>1</sup> Graduanda em Farmácia Generalista - Departamento de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB

E-mail: [chrisbiologaedu@gmail.com](mailto:chrisbiologaedu@gmail.com)



## 1 INTRODUÇÃO

A transição demográfica no Brasil durante o último século, associada ao aumento da expectativa de vida e do envelhecimento da população, acarretou aumento na frequência das doenças crônico-degenerativas, com as doenças cardiovasculares (DCV) passando a ser a principal causa de morte no país, sendo responsável por 32% dos óbitos da população em geral e por 45% dos óbitos dos idosos (JOBIM, 2008).

As DCV podem ter várias etiologias, no entanto, as de maior importância são a idade, tabagismo, as dislipidemias (essencialmente hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia), hipertensão arterial, diabetes e envelhecimento. Desde 1970-1980 a hipercolesterolemia é reconhecida como uma das principais causas de DCV. Diversos estudos, entre os quais o de Framingham, a Triagem de Intervenção em Fatores de Múltiplo Risco, demonstrou a relação entre os níveis de lipídios séricos e os níveis de mortalidade e morbidade cardiovascular (CRUZ et al., 2008).

A elevada concentração de lipídios séricos e níveis baixos da lipoproteína de alta densidade (HDL) são fatores cruciais na incidência de doenças como aterosclerose e de outras relacionadas como as doenças vasculares cerebrais isquêmicas e doenças vasculares periféricas (SANTIAGO, 2011).

Os inibidores da enzima 3-Hidroxi-3-Metilglutaril Coenzima A (HMG-CoA) redutase, também conhecidos como estatinas, são considerados os medicamentos de primeira escolha no tratamento dos distúrbios lipídicos (BONFIM et al, 2013). Contudo, com a ampla utilização dessa classe de medicamentos no tratamento da hipercolesterolemia possibilitou-se a verificação de reações adversas (SANTOS; SILVA, 2010).

Muitos medicamentos empregados rotineiramente na clínica podem apresentar, como reação colateral indesejável, a agressão ao fígado, o que poderá limitar seu uso e os benefícios esperados (BERTOLAMI, 2005). Nesse órgão, o efeito adverso mais frequente das estatinas é a discreta alteração das transaminases em cerca de 1 a 5 % dos pacientes. Elevações prolongadas em níveis superiores a três vezes o normal podem ser encontradas em 1-2 % dos casos (SOUZA, 2009). Além disso, algumas drogas também são responsáveis pela lesão renal, podendo levar, inclusive, ao declínio da taxa de filtração glomerular (TFG) (KUMAR et al., 2005).

O mecanismo pelo qual as estatinas causam dano hepático ainda não está totalmente esclarecido. No entanto, acredita-se que o dano causado aos hepatócitos seja devido a apoptose. Vários mecanismos podem estar envolvidos, contudo a diminuição dos níveis de

ubiquinona parece ser o principal fator responsável por esse processo, visto que há aumento da morte celular, do dano oxidativo e redução na síntese de ATP (SANTOS; SILVA, 2010). Por outro lado, as espécies reativas de oxigênio (EROs) são importantes mediadores na sinalização da apoptose, sendo ao mesmo tempo causa e consequência das lesões celulares associadas ao estresse oxidativo (SILVA; CERCHIARO, 2011).

Levando em consideração que a DCV encontra-se entre as principais causas mundiais de mortalidade e que o processo oxidativo contribui para o aumento do risco cardiometabólico (RCM), a suplementação com substâncias antioxidantes surgem como estratégia promissora no controle dos fatores de risco associados (CATANIA et al., 2009).

Vários trabalhos sugerem a utilidade do ácido lipóico (AL) na terapia de diversos distúrbios, como nas DCV, isquemia cerebral e do miocárdio, intoxicação por metais pesados, diabetes, síndrome da imunodeficiência adquirida e distúrbios neurodegenerativos, como mal de Alzheimer e demências relacionadas (BILSKA; WLODEK, 2005; HOLMQUIST et al., 2007). Sabe-se, ainda, que o AL tem a capacidade de reduzir as espécies reativas de oxigênio, regenerar os antioxidantes endógenos como a glutatona, a vitamina C e E e reparar danos oxidativos nos tecidos (ROJAS et al., 2011).

Recentemente, vêm sendo realizados estudos no sentido de avaliar a atividade hipocolesterolêmica das estatinas associadas a antioxidantes e diante desses trabalhos houve a necessidade da avaliação da toxicidade hepática e renal. Além disso, não há descrição na literatura da melhoria na função desses órgãos com o uso associado da sinvastatina com o AL. Desse modo, este trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade do uso isolado e combinado do AL e sinvastatina em animais, por intermédio da quantificação dos marcadores hepáticos e renais.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

Estima-se que 17.3 milhões de pessoas morreram por DCV em 2008, representando 30% de todas as mortes globais (SANTOS, 2013) e os principais fatores de risco associados são: dislipidemia, hipertensão, uso de tabaco, obesidade, sedentarismo e diabetes (SANTOS; SILVA, 2010).

A elevada concentração de lipídios séricos e baixos níveis de colesterol HDL são fatores cruciais na incidência de determinadas doenças como a aterosclerose e de outras relacionadas como as doenças vasculares cerebrais isquêmicas e as doenças vasculares periféricas (SANTIAGO, 2011).

A aterosclerose é o componente mais importante das DCV. É considerada uma doença multifatorial que se inicia a partir de uma disfunção endotelial, onde fatores pró-oxidantes e pró-inflamatórios podem estar envolvidos na iniciação e desenvolvimento da patologia, através de uma relação causa e efeito (PORTELA et al., 2014). Em adição a essa comorbidade, a hipercolesterolemia também é considerada uma das principais causas de DCV, desde a década de 70 (SANTIAGO, 2011).

Níveis elevados de colesterol, especialmente de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), bem como de triglicerídeos (TG) e baixos níveis de HDL constituem os principais alvos de tratamento segundo as diretrizes brasileiras e americanas para o controle de doenças do coração (FIEGENBAUM; HUTZ, 2006).

Os lipídeos séricos são grupos heterogêneos que compreendem o colesterol, os TG, os fosfolípidos e os ácidos graxos livres, e caracterizam-se pela relativa insolubilidade em água. Encontram-se no plasma na forma de lipoproteínas ou ligados à albumina. Essas constituem conjuntos macromoleculares que contêm lipídeos e proteínas. De acordo com a densidade e composição podem ser classificadas em HDL, LDL, VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) e quilomícrons (densidade semelhante à VLDL) (CRUZ, 2008; FARIAS, 2007; SANTIAGO, 2011).

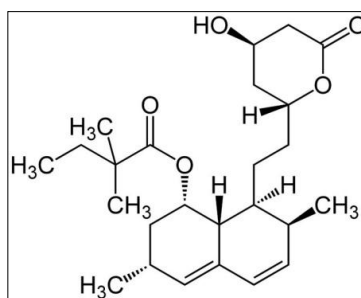
Diferentes classes de medicamentos atuam na redução do colesterol, como os inibidores competitivos da 3-hidroxi 3-metilglutaril coenzima-A (HMG-CoA redutase), também denominados de estatinas; derivados do ácido fíbrico, vulgarmente denominados por fibratos; inibidores seletivos da absorção do colesterol – ezetimiba; resinas ligadoras dos ácidos biliares; e ácido nicotínico, também denominado por niacina (RODRIGUES, 2010).

As estatinas são consideradas o medicamento de escolha para a redução do colesterol. Encontram-se disponíveis comercialmente a metavastatina, lovastatina, pravastatina, sinvastatina, fluvastatina, atorvastatina, rosuvastatina, pitavastatina e serivastatina

(SANTIAGO, 2011). A pravastatina e a sinvastatina derivam de modificações químicas da lovastatina, enquanto que, a atorvastatina, a fluvastatina e a rosuvastatina são compostos totalmente sintéticos e estruturalmente distintos uns dos outros (RODRIGUES, 2010).

As estatinas são bem absorvidas e extraídas pelo fígado, seu local de ação, e sofrem extenso metabolismo pré-sistêmico através das vias citocromo P450 e glucuronidação. A sinvastatina é um pró-fármaco inativo de lactona, metabolizado no fígado em sua forma ativa o B-hidroxi ácido graxo correspondente (RANG et al., 2007). É uma das estatinas naturais derivadas da fermentação fúngica e possui um anel hexahidronaftaleno ligado a duas cadeias laterais (éster dimetilbutirato e hidroxiácido). Como lactonas são pouco hidrossolúveis e, por isso, incorporam-se às células hepáticas com maior facilidade (SANTIAGO, 2011). (Figura 1).

Figura 1: Molécula de Sinvastatina

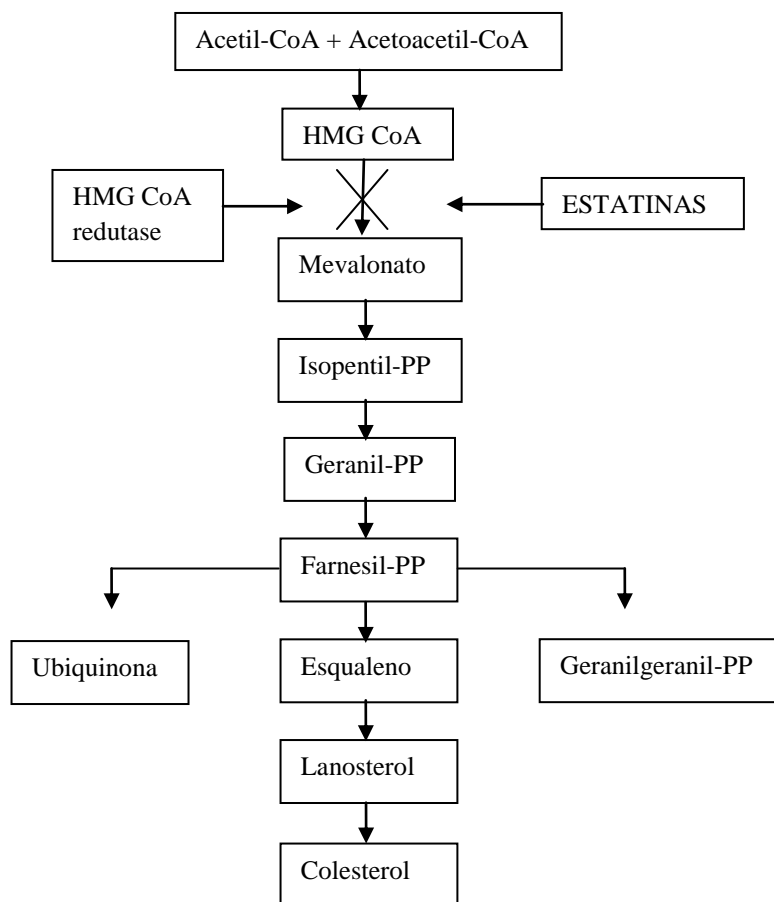


Fonte: Farmactécnica, 2009

O uso das estatinas reduz o LDL de 15% a 55%, os TG de 7% a 28%, e elevam o HDL de 2% a 10%. Essas modificações contribuem para a redução da mortalidade cardiovascular, da incidência de eventos isquêmicos coronários agudos e do acidente vascular cerebral, além de facilitar a revascularização do miocárdio (BONFIM et al., 2013). O mecanismo de ação dessa classe está relacionado à síntese do colesterol nos hepatócitos.

A biossíntese de colesterol inicia-se a partir da associação de 3 moléculas de Acetil-coenzima A (acetilCoA) para a formação de HMG-CoA. Em seguida, este é convertido em mevalonato pela enzima HMG-CoA redutase, representando a etapa limitante da síntese do colesterol. O mevalonato forma o isopentil pirofosfato, o qual se condensa (3 moléculas) formando o intermediário farnesil pirofosfato. Duas moléculas deste reagem formando o esqualeno, que originará posteriormente o lanosterol e este, por fim se converterá em colesterol (SANTIAGO, 2011) (Figura 2).

Figura 2: Biossíntese do colesterol e inibição da HMG CoA redutase



Adaptado de LINARELLI; POTTI, 2008.

As estatinas são responsáveis pela inibição parcial e reversível da HMG-CoA redutase, impedindo a conversão de HMG-CoA em mevalonato. Esses medicamentos possuem uma porção semelhante ao ácido mevalônico, por isso inibem essa conversão (FIEGENBAUM; HUTZ, 2006) (Figura 2). A redução na síntese desse composto leva a diminuição dos níveis de colesterol livre nos hepatócitos e, em resposta, dá-se um aumento da expressão do gene dos receptores de superfície específicos de LDL, o que leva ao aumento da síntese destes. O resultado é a maior ligação e remoção da LDL circulante do sangue, reduzindo seus níveis séricos. Dessa forma, o principal efeito bioquímico das estatinas consiste em reduzir as concentrações plasmáticas dessa lipoproteína (LINARELLI; POTTI, 2008; RODRIGUES, 2010).

Além disso, estudos sugerem que as estatinas podem reduzir os níveis de LDL aumentando a remoção de seus precursores, VLDL e lipoproteína de densidade intermediária (IDL), e pela diminuição da síntese hepática das VLDL. O aumento da remoção dessas pode ser explicado pelo fato de serem lipoproteínas ricas em apoproteína E, que também é reconhecida pelos receptores das LDL. Quanto à diminuição da síntese hepática das VLDL,

esta deriva da diminuição dos níveis de colesterol livre nos hepatócitos, visto que o colesterol é um componente necessário à síntese dessa lipoproteína. Esse mecanismo pode contribuir, ainda, com a redução dos níveis de TG no sangue, pois estes são um dos principais componentes das VLDL (RODRIGUES, 2010).

Dessa forma, os inibidores da HMG-CoA redutase apresentam dupla ação, reduzindo a biossíntese de colesterol e aumentando o número de receptores de LDL, promovendo a remoção de IDL e LDL circulantes (SANTIAGO, 2011).

De maneira geral, são fármacos bem tolerados pelo organismo, no entanto é possível observar alguns efeitos indesejáveis discretos como distúrbios gastrintestinais, aumento das concentrações plasmáticas das enzimas hepáticas, insônia e eczantema. A incidência desses efeitos adversos ou mesmo da miopatia e rabdomiólise é baixa e depende da dose e da administração concomitante com outros fármacos (LINARELLI; POTTI, 2008). Pode haver aumento discreto de creatinoquinase (CK) em alguns doentes que fazem uso dessa medicação. No entanto, elevações pronunciadas, podendo caracterizar rabdomiólise, acompanhadas por desconforto generalizado e fraqueza muscular são eventos mais raros (RODRIGUES, 2010).

O efeito mais frequente no fígado causado pelo uso de estatinas é a elevação das transaminases hepáticas (SANTOS; SILVA, 2010). No entanto, em geral a doença hepática induzida por droga é seguida pela recuperação com a remoção da mesma. O fluxo e refluxo da lesão hepática podem ser imperceptíveis ao paciente e detectáveis apenas através de testes laboratoriais anormais, como a medição no soro de enzimas hepatocelulares: Aspartato aminotransferase séria (AST) e Alanina aminotransferase sérica (ALT) (KUMAR et al., 2005).

As transaminases diferem entre si por sua especificidade de ação. A AST tem origem mitocondrial (30%) e citoplasmática (70%). Predomina no coração e, em menor grau, nos rins, fígado, pâncreas e músculo esquelético. Em contrapartida, a ALT tem origem unicamente citoplasmática, predominando no fígado e em menor grau nos outros órgãos citados anteriormente. Diversos agentes podem provocar sua elevação, como chás fitoterápicos e medicamentos (anticonvulsivantes, antiinflamatórios, tuberculostáticos, estatinas e drogas ilícitas) (FARIAS, 2007). Essa diferença na localização dentro da célula tem auxiliado no diagnóstico e prognóstico de doenças hepáticas. Em dano hepatocelular leve a forma predominante é a citoplasmática, enquanto que na lesão grave há liberação da mitocondrial elevando a relação AST/ALT (ROSSONI JÚNIOR, 2008).

O dano hepático induzido por estatinas pode estar relacionado ao aumento da apoptose. Alguns mecanismos podem estar envolvidos dentre os quais o estímulo da atividade de caspases, proteínas envolvidas no processo apoptótico. Outro mecanismo envolvido se

relaciona com o metabolismo do mevalonato. A parte inicial da via desse composto é uma sequência de reações que forma farnesil-pirofosfato a partir de acetil-CoA, esse é o último substrato comum para a biossíntese de diversos produtos finais, inclusive ubiquinona (Figura 1). A diminuição nos níveis desta em células hepáticas tratadas com sinvastatina seria o principal fator responsável por ativar o processo de apoptose, haja vista que há aumento da morte celular, do dano oxidativo ao DNA e redução na síntese de ATP com o aumento da concentração de sinvastatina. Além disso, a apoptose em hepatócitos, bem como diminuição da expressão de RNAm para Bcl-2 e ativação de caspase pode ser revertida por mevalonato e a suplementação com ubiquinona gera um efeito protetor contra estas lesões (SANTOS; SILVA, 2010).

A Ubiquinona ou Coenzima Q (CoQ) é um lipídio endógeno considerado antioxidante, que desempenha papel central na cadeia respiratória mitocondrial, participa da regulação da permeabilidade, diminui a oxidação de proteínas e do DNA, regenera a vitamina E e impede a disfunção endotelial, provavelmente por aumentar a disponibilidade de NO. Além disso, o produto de sua redução, o ubiquinol (CoQH<sub>2</sub>), é um antioxidante que inibe a iniciação e propagação da peroxidação lipídica (VASCONCELOS et al., 2007).

De acordo com Kaufmann et al. (2006) as estatinas também podem provocar depressão da cadeia respiratória de elétrons, bem como a liberação de citocromo C da mitocôndria, processo que pode desencadear a formação do apoptossomo e, conseqüentemente, levar a célula à apoptose.

Além de dano hepático, toxinas e drogas podem produzir lesão renal e essa nefrotoxicidade pode ser aguda ou crônica (RUSSO, 2013). Essa lesão pode ser causada de três maneiras: desencadeando uma reação imunológica intersticial; causando insuficiência renal aguda; ou causando lesão sutil, porém cumulativa, aos túbulos, que leva anos para se manifestar e resulta em insuficiência renal crônica (KUMAR et al., 2005).

Já é bastante descrito na literatura que as estatinas podem levar a alterações nas transaminases hepáticas. No entanto, apesar de ser conhecido o efeito nefrotóxico de alguns medicamentos, há pouca descrição referente a tal efeito causado pelas estatinas. Apesar de ser um evento raro há um relato de caso do surgimento de insuficiência renal aguda (IRA) induzida pelo uso de estatina, cuja suspensão resultou em melhora significativa do quadro (SIQUEIRA et al., 2008). Na prática clínica a função renal pode ser avaliada através dos marcadores ureia, creatinina e proteinúria (SODRÉ et al., 2007).

Historicamente, a ureia e creatinina sérica têm sido utilizadas como índice de retenção dos compostos nitrogenados não proteicos eliminados pelos rins. Portanto, as concentrações das mesmas são inversamente proporcionais à TFG (HENNEMANN et al., 1997). A piora da

função renal é classicamente detectada por meio dos níveis de creatinina sérica, que é, então, utilizada para estimar a TFG. Contudo, esses compostos são marcadores que detectam a lesão renal apenas quando há perda superior a 50% da TFG (PERES et al., 2013).

A apoptose discutida anteriormente também pode ser mediada por EROs, através da interação com proteínas envolvidas nesse processo (CIRCU; AW, 2010). As espécies reativas, por outro lado, também podem surgir durante a apoptose (TEIXEIRA; GUARIENTO, 2010). Dessa forma, as EROs podem ser ao mesmo tempo causa e consequência de patologias humanas associadas ao estresse oxidativo (SILVA; CERCHIARO, 2011).

As espécies reativas também denominadas de radicais livres são formas reativas de oxigênio parcialmente reduzidas, produzidas como produto indesejável no processo de respiração mitocondrial, cujo oxigênio molecular é reduzido em água para geração de energia celular. São espécies químicas que possuem um único elétron sem um par correspondente na órbita externa. A energia criada pela configuração instável dessas moléculas é liberada, através de reações com substâncias inorgânicas e orgânicas, como proteínas, lipídios e carboidratos, culminando em modificações covalentes nestas moléculas (KUMAR et al., 2005).

EROs e espécies reativas de nitrogênio (ERNs) podem ser geradas do metabolismo normal mitocondrial, em peroxissomas e em uma variedade de enzimas citosólicas. As EROS são ânion radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidroxila ( $\bullet OH$ ), oxigênio singlete ( $^1O_2^*$ ), radical peroxila ( $RO_2^{\bullet}$ ), alcoxila ( $(RO^{\bullet})$ ) e ozônio ( $O_3$ ). As ERNS são óxido nítrico ( $NO^{\bullet}$ ), dióxido de nitrogênio ( $NO_2^{\bullet}$ ), peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), dentre outras (VASCONCELOS et al., 2007).

Essas moléculas atuam como moléculas de sinalização regulando a expressão de genes cujas moléculas sintetizadas são responsáveis pela proliferação, controle e diferenciação nos processos envolvidos à resposta inflamatória. Dessa forma, o desequilíbrio dessas pode levar ao desenvolvimento de várias patologias aparentemente não relacionadas (MOHORA et al., 2009). Evidências recentes indicam que o aumento da produção de espécies reativas desempenha um importante papel fisiopatológico nas DCV (BRIONES et al., 2009; MADAMANCHI; RUNGE, 2007).

Devido ao efeito lesivo das EROs e ERNs, evoluíram sistemas complexos de defesa antioxidante, incluindo mecanismos enzimáticos e não enzimáticos, para minimizar a produção de espécies reativas durante a produção de ATP (BARTZ; PIANTADOSI, 2010). Os sistemas enzimáticos incluem Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione Peroxidase (GPx) e Glutathione redutase (GR). Enquanto os não enzimáticos correspondem a glutathione (GSH), Ubiquinona, Ácido úrico, Vitamina E, Vitamina C,  $\beta$ -caroteno,



Transferrina e Ceruloplasmina (VASCONCELOS et al., 2007) e mais recentemente foi incluído o AL.

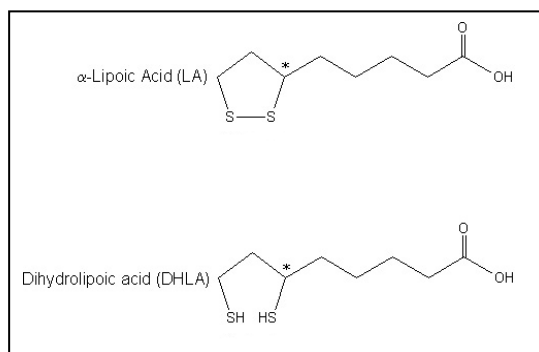
No entanto, o desequilíbrio entre produção e destruição dessas espécies reativas, correlacionado com o déficit de moléculas antioxidantes, resulta em estresse oxidativo levando a alteração do estado redox intracelular (AUDE-GARCIA et al., 2011). Dessa forma, alguns antioxidantes vêm ganhando destaque em estudos relacionados às patologias cardiovasculares e podem estar associados a redução do estresse oxidativo e da apoptose celular.

Ao longo da última década, vem sendo demonstrada a importância do AL ou 1,2-ditiolano-3-pentanóico como potente antioxidante (Figura 2). É um composto sulfidrílico derivado do ácido octanóico, que mantém suas funções de proteção contra lesões oxidativas em ambas as formas, oxidada e reduzida (ISLAM, 2009). É uma molécula relativamente pequena, proveniente do metabolismo dos ácidos graxos e sintetizada, principalmente, no fígado e nos rins (ROJAS et al., 2011).

O AL é sintetizado nas mitocôndrias e covalentemente ligado através de resíduos de lisil a complexos de ácido alfa-ceto desidrogenase. O AL ligado é um cofator da enzima e, juntamente com o ácido dihidrolipóico (DHLA), seu derivado através de redução, pode capturar diversas EROs, incluindo radicais superóxido, radicais hidroxila, ácido hipocloroso, radicais peroxila e o oxigênio singlete (MORAES, 2011).

Trata-se de um antioxidante ativo na fase lipídica, bem como na fase aquosa, sendo facilmente digerido, absorvido e transportado para os tecidos, possuindo, assim, propriedades lipofílicas que facilitam a penetração em membranas celulares (OLIVEIRA et al., 2011).

Figura 3: Molécula de ácido alfa-lipóico em sua forma oxidada e reduzida



Fonte: Micronutrient Information Center, 2010.

O AL tem características bem específicas: 1) distribui-se pela mitocôndria; 2) tem um potencial redox muito baixo, sendo por isso capaz de reciclar outros pares redox

antioxidantes, como o ascorbato; e 3) é regenerado por aumentos do dinucleótido de nicotinamida adenina (NADH) induzidos pelo aumento da glicemia e por ação dos ácidos graxos plasmáticos não esterificados (NEFA, via piruvato desidrogenase), estabelecendo uma ligação entre a atividade antioxidante e o grau de aumento do fluxo metabólico (SENA; NUNES; LOURO, 2007).

O pioneiro na pesquisa sobre o AL como antioxidante foi Lester Packer, da Universidade da Califórnia, em Berkeley. Ele descobriu, em 1991, que essa molécula é uma parte importante de uma rede de antioxidantes que incluem a vitamina C, vitamina E e a glutathione (MORAES, 2011).

É um composto produzido naturalmente em pequenas quantidades pelos vegetais e animais, incluindo humanos. O AL produzido endogenamente está ligado covalentemente a proteínas específicas que funcionam como cofatores de complexos enzimáticos mitocondriais. Dessa forma, há um interesse científico crescente no potencial terapêutico dessa molécula, tendo em vista ser eficaz para uma série de condições implicadas com dano oxidativo (SANTOS et al., 2010).

Estudos recentes, *in vitro*, mostraram que o AL é o anti-inflamatório e antioxidante protetor das células mais potente já descoberto. Por isso, é amplamente utilizado na prevenção de várias doenças crônicas associadas ao estresse oxidativo e é administrado diariamente como suplementos de dieta antienvhecimento, diabetes e doenças cardiovasculares (MORAES, 2011).

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Animais**

Foram utilizados ratos machos da raça Wistar, provenientes do biotério da Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande - PB. Os animais foram separados aleatoriamente em 4 grupos, constituindo no total 24 animais, distribuídos ao acaso, que receberam o seguinte tratamento:

- grupo 1 (controle): sem intervenção;
- grupo 2 (experimental): AL;
- grupo 3 (experimental): sinvastatina;
- grupo 4 (experimental): ácido lipóico + sinvastatina.

#### **3.2 Protocolo experimental**

Os animais foram alimentados com uma dieta aterogênica, constituída por ração acrescida de óleo de soja à 10%. Durante o período de ambientação e tratamento os animais tiveram acesso livre à alimentação, a água e mantidos em ambiente com ciclo de 12h de luminosidade controlada. As intervenções com AL (100 mg/Kg/dia) e/ou sinvastatina (2 mg/Kg/dia), ocorrerem por oito semanas, diariamente.

Os comprimidos foram adquiridos no comércio e triturados até o estado de pó, por meio de gral e pistilo, e depois foram incorporados em solução de Carboximetilcelulose sódica 0,5% e suas doses foram adequadas ao peso do animal. Após as oito semanas, os animais foram anestesiados com cetamina/clorpromazina por via intraperitoneal e, por punção da veia caudal, para coleta de amostras sanguíneas, que foram utilizadas para o doseamento dos marcadores bioquímicos.

Todo o procedimento foi realizado na Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande – FCM.

#### **3.3 Avaliação bioquímica**

Foram coletados 3 ml de sangue de todos os animais para obtenção das dosagens bioquímicas após a intervenção. Os tubos contendo sangue foram centrifugados a 3.000 rpm durante 15 minutos e os sobrenadantes foram fracionados em microtubos e armazenados a – 20°C para posterior análise. As amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Pesquisa em Bioquímica Clínica da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB, para realização das

dosagens. Estas foram feitas em um analisador semi-automático BioSystems BTS – 310 (PHOTOMETER).

Foram realizadas as dosagens das transaminases como marcadores hepáticos, Alanina Aminotransferase (ALT), Aspartato Aminotransferase (AST) e os valores de referência adotados foram: 38-82 U/L para o primeiro e 61-210 U/L para o segundo.

Para avaliação da toxicidade renal foram utilizados os marcadores Creatina e Uréia e os valores de referência adotados foram: 0,24-1,20 mg/dL para o primeiro e 26-58 mg/dL para o segundo.

Os valores de referência utilizados foram baseados no estudo realizado por Lima et al. (2014). Todas as determinações foram realizadas pela técnica de colorimetria, seguindo as recomendações do fabricante do kit (Biotécnica®).

### **3.4 Tratamento estatístico**

Inicialmente os dados foram avaliados quanto à normalidade através do teste de Shapiro-Wilk. Em seguida, como as amostras mostraram-se paramétricas, utilizou-se o teste ANOVA para as análises intergrupos. O nível de significância dos testes foi estabelecido em 5%.

Todas as variáveis foram submetidas a análises pelo pacote estatístico Statistical Package for Social Sciences (SPSS 20.0, Chicago, IL, EUA).

### **3.5 Considerações éticas**

Este estudo seguiu os preceitos éticos para estudos com animais, sendo submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da FCM, estando constituído no projeto “Efeito do ácido lipóico e da sinvastatina sobre marcadores de risco cardiovascular” – CEUA: 0032/14/06/2013.

## 4 RESULTADOS

A tabela 1 apresenta as variáveis laboratoriais, considerando os critérios para avaliação da função hepática e comparando os resultados obtidos entre os grupos após a intervenção.

**Tabela 1:** Análise dos marcadores da função hepática após a intervenção

<i>Parâmetros</i>	<i>Resultados (mg/dl)</i>	<i>Valores de Referência</i>	<i>Avaliação Intergrupo</i>
<b>AST(U/L)</b>			
<i>Controle</i>	71,70 (10,26)		
<i>Ácido lipóico</i>	95,43 (13,96)	61-210	p= 0,001
<i>Sinvastatina</i>	68,82 (6,05)		
<i>AL + sinvastatina</i>	74,26 (8,66)		
<b>ALT(U/L)</b>			
<i>Controle</i>	29,83 (10,22)		
<i>Ácido lipóico</i>	38,00 (3,52)	38-82	p= 0,026
<i>Sinvastatina</i>	41,83 (5,15)		
<i>AL + sinvastatina</i>	31,33 (7,55)		

\*AST (Aspartato Aminotransferase); ALT (Alanina Aminotransferase); AL (ácido lipóico)

Após oito semanas de intervenção a função hepática foi avaliada através das concentrações séricas das enzimas AST e ALT, cujos resultados encontrados estiveram dentro da faixa de normalidade, de acordo com o trabalho de Lima et al. (2014).

A avaliação do marcador ALT mostrou que os grupos de intervenção apresentaram níveis séricos maiores do que aqueles encontrados no grupo controle, e essa alteração foi estatisticamente significativa. Alteração maior foi verificada nos animais tratados com sinvastatina. Contudo, quando esta foi administrada em associação ao AL foi possível observar redução do marcador, quando comparado aos grupos de intervenção isolados. Com relação à AST também houve aumento nos grupos quando comparados ao controle, sendo considerado estatisticamente significativo. Redução nesse parâmetro foi observada nos animais tratados com sinvastatina isoladamente. Por outro lado, a intervenção com AL isolado mostrou aumento significativo nesse parâmetro.

A função renal foi avaliada a partir das concentrações séricas de creatinina e ureia. Os dados referentes a estes marcadores nos grupos são apresentados na tabela 2. Os resultados

obtidos estiveram dentro dos valores de referência adotados, para a creatinina. O mesmo não ocorreu para ureia.

Tabela 2: Análise dos marcadores da função renal após a intervenção

<i>Parâmetros</i>	<i>Resultados (mg/dl)</i>	<i>Valores de Referência</i>	<i>Avaliação Intergrupo</i>
<b><i>Creatinina(mg/dL)</i></b>			
<i>Controle</i>	0,75 (0,84)		
<i>Ácido lipóico</i>	0,48 (0,98)	0,24-1,20	p= 0,016
<i>Sinvastatina</i>	0,65 (0,21)		
<i>AL + sinvastatina</i>	0,63 (0,18)		
<b><i>Uréia(mg/dL)</i></b>			
<i>Controle</i>	76,33 (9,29)		
<i>Ácido lipóico</i>	68,00 (6,29)	26-58	p= 0,424
<i>Sinvastatina</i>	72,33 (9,69)		
<i>AL + sinvastatina</i>	70,17 (10,53)		

\*AST (Aspartato Aminotransferase); ALT (Alanina Aminotransferase); AL (ácido lipóico)

Ao analisar os valores de creatinina, observou-se que todos os grupos apresentaram valores inferiores ao grupo controle e essas alterações foram estatisticamente significativas. Maior redução foi observada no grupo tratado com AL isolado. Com relação à ureia foi possível constatar que houve redução nos grupos de intervenção quando comparados ao controle, no entanto essas alterações não foram significativas.

## 5 DISCUSSÃO

Muitos medicamentos, incluindo as estatinas, podem apresentar, como reação colateral indesejável, a agressão ao fígado, sendo constatada pela elevação das transaminases hepáticas (FERRER, 2009). Além de dano hepático, os medicamentos podem produzir lesão renal e essa nefrotoxicidade pode ser aguda ou crônica (RUSSO, 2013).

Nesta pesquisa observou-se elevação das transaminases hepáticas em relação ao grupo controle, com exceção de AST no grupo em tratamento com sinvastatina. Esse resultado corrobora com o de Bonfim (2010), que constatou aumento de ALT em experimentos com animais, que receberam intervenção com atorvastatina 10mg/Kg/dia durante quatro semanas. O mesmo também não verificou alterações de AST.

Segundo Souza 2009, em estudos com animais, utilizando altas doses de estatinas foi possível observar lesões hepáticas, o que não ocorreu quando se usou doses adequadas.

Em estudos realizados com humanos Bonfim et al. (2013) observaram alteração nas transaminases em 12% dos pacientes tratados com estatina. Por outro lado, o estudo de Morais (2009) não constatou alterações significativas nos mesmos marcadores.

Dessa forma, os resultados encontrados estão em conformidade com os descritos na literatura, os quais relatam que as estatinas podem causar discreta alteração dessas enzimas em pacientes que fazem uso de estatinas (SANTOS; SILVA, 2010; SANTOS, 2013).

Os resultados achados para ALT mostram que apesar do aumento em relação ao controle a intervenção com AL associado à sinvastatina resultou em diminuição desse parâmetro, sugerindo possível atividade protetora do AL. Esta pode estar relacionada à diminuição do estresse oxidativo e da apoptose celular, mecanismos pelos quais acredita-se que as estatinas causam dano hepático (SANTOS; SILVA, 2010).

As EROs vem sendo reconhecidas como importantes mediadores no processo de sinalização da apoptose. Pode inclusive causar a liberação do citocromo c, molécula central envolvida nesse processo. Por outro lado, perda significativa do citocromo c leva ao aumento na produção de espécies reativas, devido à interrupção na cadeia de transporte, por perda de elétrons (CIRCU; AW, 2010). Dessa forma, sugere-se que o AL teve importante atividade antioxidante. Alguns fármacos com ação antioxidante e antiinflamatória possuem efeito hepatoprotetor (FERREIRA, 2011). No entanto, não há relato na literatura referente a esse efeito, quando do uso de AL isolado ou associado às estatinas.

Nesse estudo foi constatada maior redução de AST no grupo em uso de sinvastatina isolada e aumento no grupo que recebeu AL isolado, estando em conformidade com o

trabalho realizado por Bonfim (2010), que não verificou nenhuma alteração nesse parâmetro durante o tratamento de animais com estatinas. No entanto, deve-se ter uma interpretação cautelosa, devido ao pequeno número de animais que fizeram parte da intervenção.

Vale salientar, ainda, que a ALT é uma transaminase unicamente citosólica, sendo assim seu aumento é mais específico de lesão hepática. Além disso, a AST predomina no coração e em menor grau nos outros tecidos, sendo liberada no sangue quando qualquer um desses tecidos é danificado (FARIAS, 2007).

Estudos recentes indicam que as estatinas apresentam capacidade protetora contra danos oxidativos, tendo sido demonstrada sua atividade antioxidante em estudos realizados em tecidos e em modelos *in vivo*. Ainda se sabe pouco sobre a forma pela qual as mesmas atuam como antioxidantes. Especula-se que é devido à redução dos compostos isoprenóides, aumento da produção de óxido nítrico (NO) e as suas características anti-inflamatórias, já que estas se relacionam diretamente com as espécies reativas (SANTIAGO, 2011).

Dessa forma, após a intervenção, a redução nos marcadores da função hepática encontrados no nosso estudo, apesar de estarem acima dos valores encontrados no grupo controle, podem estar relacionados à ação benéfica dessas moléculas no estresse oxidativo, visto que alguns estudos já demonstraram os efeitos na melhoria da função endotelial, efeitos antioxidantes e as propriedades anti-inflamatórias das estatinas (SILVA, 2013) e do AL (MORAES, 2011; SANTOS et al., 2010).

Os resultados laboratoriais referentes à creatinina mostraram que houve redução nesse marcador em todos os grupos, em relação ao controle, e a administração de AL isolado ou em associação a sinvastatina resultou em maior diminuição do mesmo. Esse achado corrobora com os de Rahman et al. (2011), que constataram o efeito protetor renal do AL em ratos, através da redução da proteinúria.

Achado semelhante foi encontrado por Cardoso (2013), dado não publicado, cujo trabalho verificou a redução dos níveis séricos de creatinina em pacientes em uso de AL em associação com anti-hipertensivos, sugerindo a melhoria da função renal.

Além disso, existem fortes evidências de que estatinas não causam dano glomerular, proteinúria, interferência no transporte de proteínas, hematuria, dano tubular e nem insuficiência renal aguda (SANTOS; SILVA, 2010). Contudo, apesar de não ser conhecida a ação das estatinas na lesão renal, há um relato de caso do surgimento de IRA induzida pelo uso das mesmas (SIQUEIRA et al., 2008).

Em estudos realizados com modelo animal, o efeito protetor renal das estatinas vem sendo constatado, podendo estar associados ao aumento na filtração glomerular e redução da lesão tubular, podendo indicar menores níveis de EROs (TESHIMA et al., 2010, 2012).



Estudos em modelos de isquemia renal também demonstram o efeito renoprotetor da sinvastatina com melhoria da necrose tubular aguda, verificada através da análise histológica e redução dos valores da fração de excreção de sódio (TODOROVIC et al., 2008).

Com relação a estudos em humanos, o experimento clínico Heart Protection Study Collaborative Group, que envolveu 20.536 indivíduos, também pode verificar os efeitos benéficos das estatinas, o qual foi comprovado que após aproximadamente cinco anos de acompanhamento, pacientes de alto risco cardiovascular tratados com sinvastatina apresentaram níveis médios de creatinina plasmática inferiores aos dos pacientes que receberam placebo (LAURINAVICIUS; SANTOS, 2008).

Resultado diferente foi obtido para ureia, cujas concentrações estiveram acima dos valores de referência. Foi observada redução nesse parâmetro nos animais em tratamento com AL isolado, mas as alterações não foram estatisticamente significativas. Redução significativa da ureia foi encontrada no estudo realizado por Cardoso (2013), em pacientes em tratamento com esse antioxidante.

Contudo, de acordo com Russo (2013), a ureia plasmática pode apresentar um valor alterado em situações, nas quais, não houve alteração real da TFG, enquanto que, também não há alteração no valor da creatinina sérica. Estas situações incluem casos de elevada quantidade de aminoácidos metabolizados no fígado, como por exemplo, quando são seguidas dietas hiperproteicas; alteração também pode ser observada quando do uso concomitante de alguns medicamentos. Assim, a creatinina é o marcador mais utilizado por se manter inalterado nessas situações.

Neste estudo sugere-se que a administração de AL e sinvastatina esteve associadas a elevação discreta das transaminases hepáticas. Contudo, o tratamento com sinvastatina reduziu os valores de AST e, a associação dessa com AL reduziu a ALT. Além disso, o tratamento com AL foi responsável pela maior redução da creatinina e ureia, apesar dos valores desta estarem acima dos encontrados no grupo controle.

Apesar de ser conhecido o efeito da sinvastatina na diminuição dos níveis de ubiquinona, podendo aumentar o estresse oxidativo (ELIAS et al, 2008), a inibição da via do mevalonato pode ter levado a diminuição da concentração dos compostos isoprenóides, com consequente redução da ativação leucocitária e do estresse oxidativo. E, levando em consideração que estas atividades já são bem conhecidas com relação ao AL, este pode ter desempenhado importante papel na regulação do estado redox. Dessa forma, sugere-se que a sinvastatina agiu em sinergismo positivo com o AL, na melhoria da função hepática e renal, cujos fatores envolvidos podem estar relacionados à melhoria da disfunção endotelial, estresse oxidativo e condições inflamatórias.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As estatinas continuam sendo o fármaco de escolha no tratamento dos distúrbios lipídicos. Contudo, podem estar associadas ao aparecimento de reações adversas, as quais são provenientes do próprio mecanismo de ação. Nesta pesquisa foi observada alteração das transaminases hepáticas, confirmando os relatos encontrados na literatura. Dessa forma, recomenda-se durante a terapêutica com estatinas a determinação das taxas dessas enzimas, antes e após algumas semanas de uso e por ocasião do aumento da posologia, bem como na presença de reações adversas.

Foi constatada redução nos níveis de creatinina, o que não ocorreu para ureia. De qualquer modo, se sugere que não houve toxicidade renal após a administração de AL isolado ou em associação com sinvastatina.

Nos últimos anos outras propriedades vêm sendo atribuídas as estatinas, independentes da redução lipídica, entre as quais podemos citar melhoria na função endotelial, efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios. Não obstante já são bem conhecidas estas propriedades com relação ao AL e diversos estudos vem demonstrando a importância do uso deste associado a outras substâncias, na melhoria de diversas condições patológicas.

O tratamento com AL isolado ou em associação à sinvastatina reduziu os marcadores estudados, o que pode indicar benefício terapêutico. Ambas as moléculas podem apresentar atividade protetora, devido aos seus efeitos no estresse oxidativo e nas vias do processo inflamatório. No entanto, o AL se sobressaiu por ter sido responsável por maior redução nos parâmetros em geral.

A atividade antioxidante e anti-inflamatória do AL vem sendo constatada em diferentes estudos. Contudo, não foi encontrado relato de experimento com o uso do mesmo associado às estatinas. Os resultados encontrados confirmam a importância do uso de suplementos antioxidantes no controle dos fatores de risco associados às DCV, visto que possibilitam a melhoria na função dos órgãos.

Estudos adicionais serão necessários para que se possa avaliar o efeito dessas moléculas nos marcadores de lesão hepática e renal em um número maior de animais, bem como avaliação dos marcadores de estresse oxidativo e da atividade inflamatória.

Além disso, é de relevante importância a realização de novos estudos direcionados em humanos para que se possa avaliar a atividade dessas moléculas em associação e verificar qual a posologia mais segura para o tratamento com as estatinas, resultando, assim, na melhoria da qualidade de vida dos indivíduos que fazem uso dessa medicação.

## EVALUATION OF TOXICITY OF ISOLATED AND COMBINED USE OF LIPOIC ACID AND SIMVASTATIN ON ANIMALS

CARDOSO, Christiane Alves<sup>1</sup>

### ABSTRACT

**Introduction:** Statins are considered the drugs of choice in the treatment of lipid disorders. However, it can lead to some undesirable effects such as changing the concentration of hepatic transaminases. It is believed that the increased cell death and oxidative stress play an important role in the development of injury involved. On the other hand, lipoic acid (LA) is considered the more potent anti-inflammatory and antioxidant protector of cells ever discovered and is widely used in several chronic diseases associated with oxidative stress therapy. Thus, supplementation with antioxidants appears as a promising strategy in the control of risk factors associated with other pathologies. **Objective:** Evaluate the toxicity of single and combined use of AL and simvastatin in animals through quantification of hepatic and renal function markers. **Methodology:** Male Wistar rats were used, which were randomly divided into four groups: controlled, without intervention; AL, who received 100 mg / kg / day; Simvastatin, which received 2 mg / kg / day; and the group that received simvastatin associated with AL, all during 8 weeks. Laboratory data of 24 animals were evaluated, taking into account the markers of liver function, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and renal function (creatinine and urea). **Results:** Of the markers studied, only urea presented an alteration according to the reference values adopted. The intergroup evaluation marker ALT showed statistically significant ( $p = 0.026$ ) and LA + simvastatin group had a greater reduction in this parameter. The evaluation between groups for AST also showed significant alteration ( $p = 0.001$ ), with the greatest reduction observed in the group treated with simvastatin alone. Significant change ( $p = 0.016$ ) was also observed for creatinine, whose group presented the highest reduction was treated with AL + simvastatin. No statistically significant change was observed for urea. **Conclusion:** In this study changes in liver transaminases was observed, confirming reports in the literature. And the reduction in the levels of creatinine and urea. Thus, it is suggested that there was no renal toxicity following administration of LA alone or in combination with simvastatin. Moreover, the change of the markers after the intervention may indicate that there has been improvement in the function of these organs. However, further studies are needed before we can assess the effect of these molecules on the markers in the study on a larger number of animals, as well as markers of oxidative stress and inflammatory activity.

**KEYWORDS:** Simvastatin. Lipoic acid. Liver function. Renal function.

## REFERÊNCIAS

- AUDE-GARCIA, C. et al. Enhanced susceptibility of T lymphocytes to oxidative stress in the absence of the cellular prion protein. **Cell Mol Life Sci**, v. 68, p. 687-696, 2011.
- BARTZ, R. R.; PIANTADOSI, C. A. Clinical review: Oxygen as a signaling molecule. **Critical Care**, v. 14, 234p, 2010.
- BERTOLAMI, M. C. Mecanismos de Hepatotoxicidade. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 85, V, 2005.
- BILSKA, A.; WLODEK, L. Lipoic acid – the drug of the future? **Pharmacol. Rep.**, v. 57, n. 5, 2005.
- BONFIM, M. R. **Estudo das respostas bioquímica e muscular da administração de estatina e sua descontinuidade associadas à atividade física em ratos**. Dissertação (Pós-graduação em Fisioterapia), Universidade Estadual Paulista, Presidente Prudente, 2010.
- BONFIM, M. R. et al. Caracterização do tratamento medicamentoso com estatinas em unidades básica de saúde. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 46, v. 1, p. 47-55, 2013.
- BRIONES, A. M. et al. Atorvastatin prevents angiotensin II – Induced vascular remodeling and oxidative stress. **Journal of the American Heart Association**, v. 54, p. 142-149, 2009.
- CARDOSO, C. A. **Investigação dos efeitos da suplementação com ácido lipóico na função renal de hipertensos e/ou diabéticos**. Trabalho de Conclusão de Curso (Farmácia Generalista), UEPB, 2013.
- CATANIA, A. S.; BARROS, C. R.; FERREIRA, S. R. G. Vitaminas e minerais com propriedades antioxidantes e risco cardiometabólico: controvérsias e perspectivas. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 53, n. 5, 2009.
- CIRCU, M. L; AW, T. Y. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 48, p: 749–762, 2010.
- CRUZ, M. P. et al. Adverse side effects of statins in the oral cavity. **Med Oral Patol Cir Bucal**. 13 (2), p 2-4, 2008.
- ELIAS, J. A. Z. et al. Efeito do Ramipril e da Sinvastatina sobre o Estresse Oxidativo de Ratos Diabéticos. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 52, n. 7, 2008.
- FARIAS, S. R. **Bioquímica Clínica**. Campina Grande: EDUEP, 2007.
- FARMACOTÉCNICA. 2009. Disponível em: [http://farmacotecnicaaph.blogspot.com.br/2009\\_11\\_01\\_archive.html](http://farmacotecnicaaph.blogspot.com.br/2009_11_01_archive.html). Acesso em: 13 de Maio de 2014.
- FERREIRA, A. S. P. Hepatotoxicidade: há evidências para o uso de hepatoprotetores? **GED Gastroenterol. Endosc. Dig**, v. 30, Supl 1, p.6-47, 2011.

FERRER, J. I. Estatinas, uso racional en el tratamiento de la dislipoproteinemia. **Revista Cubana de Medicina General Integral**, v. 25, n. 2, 2009.

FIGENBAUM, M.; HUTZ, M. H. Farmacogenética de fármacos hipolipemiantes. **Simpósio Farmacogenética**, Capítulo IV. v. 39, n. 4, p.543-53, out./dez. 2006.

HENNEMANN, C. R. A, et al. Atividade da gama glutamil transpeptidase urinária, dosagens séricas de uréia e creatinina como meios diagnósticos auxiliares na nefrotoxicidade induzida por aminoglicosídeo em cães. **Ciência Rural**, v. 27, n. 2, 1997.

HOLMQUIST, L. et al. Lipoic acid as a novel treatment for Alzheimer's disease and related dementias. **Pharmacol. Ther.**, v. 113, n. 1, 2007.

ISLAM, M. T. Antioxidant activities of dithiol alpha-lipoic acid. **Bangladesh J. Med. Sci., Dhaka**, v. 8, n. 3, p. 46-51, 2009.

JOBIM, Eduardo F. C. Hipertensão Arterial no Idoso: Classificação e Peculiaridades. **Rev Bras Clin Med**, v. 6, p. 250-253, 2008.

KAUFMANN, P. et al. Toxicity of statins on rat skeletal muscle mitochondria. **Cell. Mol. Life Sci.**, n. 63, n. 19-20, p. 2415-2425, 2006.

KUMAR, V; ABBAS, A. K; FAUSTO, N. **Patologia – Bases Patológicas das Doenças**. 7 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

LAURINAVICIUS, A. G.; SANTOS, R. D. Dislipidemia, estatinas e insuficiência renal crônica. **Rev Bras Hipertens.**, v.15, n. 3, p. 156-161, 2008.

LIMA, C. M; et al. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem *Wistar*) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. **Scientia Plena** 10, v. 10, n. 03, 2014.

LINARELLI, M. C. B; POTT JR, E. Estatinas: uma revisão sobre aspectos vasculares. **Rev. Ciênc. Méd.**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 43-52, jan/fev., 2008.

MADAMANCHI, N. R; RUNGE, S. R. Mitochondrial dysfunction in atherosclerosis. **Circulation Research**, v. 100, p. 460-473, 2007.

MICRONUTRIENT, Information Center. 2010. Disponível em: <http://pi.oregonstate.edu/infocenter/othernuts/la/lastructure.html>, acesso em: 13 de Junho de 2014.

MOHORA, M. et al. Redox-sensitive signaling factors and antioxidants. **Farmacologia**, v. 57, p. 399-411, 2009.

MORAES, J. D. D. **Desenvolvimento de cosmético contendo ácido alfa-lipóico para a prevenção de alterações da pele e do envelhecimento cutâneo**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2011.

MORAIS, E. C. **Avaliação dos efeitos hipocolesterolêmico, antioxidante e anti-inflamatório da infusão de erva-mate (*ilex paraguariensis*) em indivíduos normolipidêmicos ou dislipidêmicos, usuários ou não de estatina**. Dissertação (Programa

de Pós-Graduação em Farmácia), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

OLIVEIRA, S. R.; CASTRO, A. S.; RIBAS, J. L. L. Ação do complexo da coenzima Q sob efeito do ácido  $\alpha$ -lipoico (ALA) no tratamento da fibromialgia: Uma revisão. **R. Ci. md. biol.**, Salvador, v. 10, n. 1, p. 71-76, 2011.

PERES, L. A. B, et al. Biomarcadores de injúria renal aguda. **J Bras Nefrol**, 2013;v. 35, n. 3, p:229-236, 2013.

PORTELA, A. S. et al. Estatinas x ácido lipóico na prevenção e tratamento das doenças cardiovasculares. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v.35, n. 1, p. 09-15, 2014.

RAHMAN, S. T. et al. The Impact of Lipoic Acid on Endothelial Function and Proteinuria in Quinapril-Treated Diabetic Patients With Stage I Hypertension: Results From the QUALITY Study. **J Cardiovasc Pharmacol Ther**, v. 12, 2011.

RANG, H. P. et al. **Farmacologia**. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

RODRIGUES, C. S. **Influência da farmacogenômica na terapêutica antilipidêmica**. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade do Algarve, 2010.

ROJAS, W. M.; VERBEL, J. O.; ZUÑIGA, C. O. Searching of Protein Targets for Alpha Lipoic Acid. **J. Braz. Chem. Soc**, v. 22, n. 12, p. 2250-2259, 2011.

ROSSONI JÚNIOR, J. V. **Perfil lipídico, defesas antioxidantes e marcadores de função hepática renal em hamsteres tratados com semente de urucum**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Ouro Preto, 2008.

RUSSO, J. I. S. **Nefrotoxicidade Induzida por Fármacos: Caracterização da Realidade Hospitalar, Medidas Preventivas e Oportunidades de Intervenção**. Dissertação (Mestrado em Farmácia Hospitalar), Universidade de Lisboa, 2013.

SANTIAGO, M. A. M. C. **Estatinas – Efeitos tóxicos e novas aplicações**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2011.

SANTOS, I. M. S. et al. Alterations on monoamines concentration in rat hippocampus produced by lipoic acid. **Arq. Neuro-psiquiatr**, São Paulo, v. 68, n. 3, p. 362-366, 2010.

SANTOS, L. N; SILVA, F. V. Reações adversas às estatinas: mecanismo de ação e evidências clínicas. **R. Ci. méd. biol.**, v. 9, n. 1, p. 79-86, 2010.

SANTOS, M. C. B. Adesão ao tratamento com estatinas. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde), UnB, Brasília, 2013.

SENA, C. M.; NUNES, E.; LOURO, T. Disfunção Endotelial na Diabetes Tipo 2: Efeito de Antioxidantes. **Rev Port Cardiol**, v. 26, p. 609-19, 2007.

SILVA, D. C.; CERCHIARO, G. Relações patofisiológicas entre estresse oxidativo e arteriosclerose. **Quim. Nova**, v. 34, n. 2, p. 300-305, 2011.

SILVA, S. M. **As estatinas como anti-dislipidêmicos hoje e como anti-inflamatórios amanhã.** Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Ciências e Tecnologia da Saúde, Universidade Lusófona, 2013.

SIQUEIRA, E. E. M; et al. Insuficiência Renal Aguda e Rabdomiólise Induzida pelo Uso de Estatina. Relato de Caso. **Rev Bras Clin Med**, v. 6, p. 273-275, 2008.

SODRÉ, F. L.; COSTA, J. C. B.; LIMA, J. C. C. Avaliação da função renal: um desafio laboratorial. **J Bras Patol Med Lab**, v. 43, n. 5, p. 329-337, 2007.

SOUZA, A. F. M. Hepatotoxicidade induzida por estatinas. **Gaz. méd. Bahia**, v. 79 (Supl.2), p. 50-51, 2009.

TESHIMA, C. A. S. et al. Efeito renoprotetor da estatina: modelo animal de isquemia-reperfusão. **Rev Bras Ter Intensiva**, v. 22, n. 3, p. 245-249, 2010.

TESHIMA, C. A. S. et al. Simvastatina e lesão renal aguda isquêmica em ratos. **Acta Paul Enferm.**, v. 25, n. 1, p. 86-89, 2012.

TEIXEIRA, I. N. A. O.; GUARIENTO, M. E. Biologia do envelhecimento: teorias, mecanismos e perspectivas. **Ciênc. saúde coletiva**, v.15, n. 6, 2010.




TODOROVIC, Z. et al. Acute protective effects of simvastatin in the rat model of renal ischemia-reperfusion injury: it is never too late for the pretreatment. **J Pharmacol Sci.**, v. 107, n. 4, p:465-70, 2008.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Quim. Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

# ANEXO



## ANEXO A – Folha de Aprovação da Comissão de Ética no uso de animais

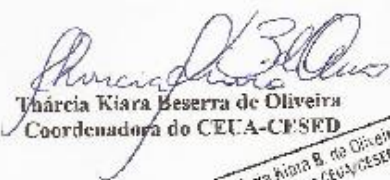




**CENTRO DE ENSINO SUPERIOR E DESENVOLVIMENTO  
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DE CAMPINA GRANDE  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA/CESED**

**PARECER**


**CEUA: n° 11**  
**NÚMERO DO PROJETO: 0032/14/06/2013**  
**CTAEP/CONCEA N°: 01.001.2012**  
**APROVADO EM: 05/07/2013**

1. Pesquisador Responsável:  
ALYNE DA SILVA PORTELA
2. Título do Projeto:  
EFEITO DO ÁCIDO LIPÓICO E DA SINVASTATINA SOBRE MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO E DE RISCO CARDIOVASCULAR
3. Objetivo:  
  
Avaliar os efeitos do ácido lipóico e da sinvastatina em relação ao uso isolado e combinado das duas substâncias sobre marcadores de estresse oxidativo e de risco cardiovascular em animais.
4. Considerações:  
  
O projeto apresentado está bem discriminado e coerente com as normas de utilização de animais. Cumpre os requisitos da Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, e as demais normas aplicáveis à utilização de animais para o ensino e pesquisa, especialmente as resoluções do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA. O protocolo de pesquisa está devidamente preenchido, com todos os itens solicitados entregue a CEUA/CESED
5. Parecer Final:  
APROVADO



**Thárcia Kiara Beserra de Oliveira**  
Coordenadora do CEUA-CESED

*Thárcia Kiara B. de Oliveira*  
Coordenadora CEUA/CESED



Av. Senador Argemiro de Figueiredo, 1901 - Itararé  
CEP 58411-020 | Campina Grande - PB | (83) 2101-8300  
www.cesed.br | facisa@cesed.br | fcm@cesed.br | esac@cesed.br