

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia

EFEITO DA ATORVASTATINA SOBRE O CORAÇÃO EM RATOS SUBMETIDOS A  
INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO

Tatiana Ederich Lehnen  
Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Beatriz D'Agord Schaan  
Co-orientadora: Dr<sup>ª</sup>. Ângela Maria Vicente Tavares

Porto Alegre, março de 2012.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia

EFEITO DA ATORVASTATINA SOBRE O CORAÇÃO EM RATOS SUBMETIDOS A  
INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Ciências Médicas: Endocrinologia,  
para obtenção do título de Mestre.

Tatiana Ederich Lehen

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Beatriz D'Agord Schaan

Co-orientadora: Dr<sup>ª</sup>. Ângela Maria Vicente Tavares

Porto Alegre, março de 2012.

## CIP - Catalogação na Publicação

Lehnen, Tatiana Ederich

EFEITOS DA ATORVASTATINA SOBRE CORAÇÃO EM RATOS  
SUBMETIDOS A INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO / Tatiana  
Ederich Lehnen. -- 2012.

83 f.

Orientadora: Beatriz D\ 'Agord Schaan.

Coorientadora: Angela Maria Vicente Tavares.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa  
de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia,  
Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Atorvastatina. 2. Infarto agudo do miocárdio.  
3. GLUT4. I. Schaan, Beatriz D\ 'Agord , orient. II.  
Tavares, Angela Maria Vicente, coorient. III. Título.

## AGRADECIMENTOS

À Prof<sup>a</sup> **Dra Beatriz D'Agord Schaan** que me deu oportunidade de entrar no mestrado e acreditou em mim, sendo uma pessoa que admiro por sua dedicação, competência e profissionalismo.

À **Dra Angela Tavares** que teve paciência em me explicar assuntos de fisiologia e técnicas experimentais.

À **Dra Melissa Markoski** que pude contar sempre que precisei para tirar dúvidas e que confiei plenamente para me ajudar em análises bioquímicas.

Aos colegas do Laboratório de Experimentação Animal (LEA), **Lucinara, Grazi, Ariel e Júlia**, pela ajuda nas diversas etapas da pesquisa. Colegas que tenho respeito pelos seus conhecimentos, paciência e prestatividade.

Aos meus pais, **Álvaro e Bete**, que me ensinaram a batalhar por aquilo que eu quero.

Ao meu marido, **Alexandre Machado Lehen**, pela dedicação, carinho e compreensão, me apoiando em todos os momentos e consagrando, mais do que nunca, a difícil arte de amar.

Ao meu filho, **Felipe**, que está por chegar, que no final desta jornada me trouxe muita alegria e paz no coração, me deixando calma e tranquila.

## SUMÁRIO

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS .....	6
BASE TEÓRICA .....	8
1 INTRODUÇÃO .....	9
2 INSUFICIÊNCIA CARDÍACA APÓS INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO .....	12
2.1 Patogênese e progressão do Infarto Agudo do Miocárdio.....	13
2.2 Papel da modulação imunoinflamatória .....	17
2.3 Estresse oxidativo .....	19
2.4 Sistema energético e os transportadores de glicose.....	22
3 ESTATINAS .....	26
4 JUSTIFICATIVA.....	32
5 HIPÓTESE .....	33
6 OBJETIVOS.....	34
6.1 Geral .....	34
6.2 Específicos.....	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA BASE TEÓRICA.....	35
ARTIGO.....	51

## ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AMPK	Adenosina Monofosfato
ATP-CP	Adenosina Trifosfato – Creatina Fosfato
8-OhdG	8-hidroxideoxiguanosina
Akt	Proteína quinase B fosforilada
ATP	Adenosina Trifosfato
Ca <sup>++</sup>	Cálcio
CAT	Catalase
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
eNOS	Óxido Nítrico Sintase endotelial
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
GLUT	<i>Glucose Transporter</i>
GLUT4	<i>Glucose Transporter</i> isoforma 4
GLUTs	Transportadores de Glicose
GPx	Glutationa Peroxidase
GSH	Glutationa oxidada
GSSG	Glutationa reduzida
H <sup>+</sup>	Hidrogênio
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de Hidrogênio
HMG-CoA redutase	3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima-A redutase
iNOS	Óxido nítrico sintase induzida
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
IC	Insuficiência Cardíaca
IκB	Inibidores Kappa Beta
IL-1	Interleucina-1
IL-10	Interleucina-10
IL-6	Interleucina-6
KDa	Quilodalton
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
LPO	Lipoperoxidação
mmHg	Milímetros de Mercúrio
mRNA	RNA mensageiro

NFκB	Fator Nuclear Kappa Beta
NO	Óxido Nítrico
NOS	Óxido Nítrico Sintase
O <sub>2</sub>	Oxigênio
SOD	Superóxido Dismutase
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral α
WKY	<i>Wistar Kyoto</i>

## **BASE TEÓRICA**



## 1 INTRODUÇÃO

O infarto agudo do miocárdio (IAM) é considerado uma das principais causas de morte no Brasil e no mundo, podendo ser uma das primeiras manifestações de doença arterial coronariana e, conseqüentemente, levando ao óbito (Thygesen *et al.* 2007). O número de casos que ocorrem anualmente é desconhecido, mas a taxa de mortalidade no primeiro mês após um IAM fica em torno de 40%, sendo que metade dos óbitos ocorrem nas primeiras 2 horas após o evento e 14% ocorrem antes do paciente receber atendimento, (Van de Werf *et al.* 2003).

A perda de tecido muscular determina uma série de respostas compensatórias que ocorre no ventrículo esquerdo após um IAM, com o objetivo primordial de preservar o débito cardíaco. Após a lesão, vários mecanismos são acionados com o objetivo de retomar a homeostase do sistema cardiovascular. Significativos avanços têm sido alcançados no entendimento dos mecanismos hemodinâmicos, histológicos e moleculares envolvidos nas alterações que ocorrem no tecido cardíaco após um dano isquêmico. Entretanto, muitos indivíduos que sofrem eventos agudos, mesmo quando tratados de forma otimizada, desenvolvem dilatação ventricular progressiva e evoluem para quadros de insuficiência cardíaca (IC).

A disfunção do miocárdio está associada com a expressão de mediadores inflamatórios, como as citocinas, sendo um fator importante para o desenvolvimento e progressão da IC. Entre essas citocinas inflamatórias estão o fator de necrose tumoral- $\alpha$

(TNF- $\alpha$ ), interleucina-6 (IL-6) e interleucina 10 (IL-10) (El-Menyar 2008; Lopes *et al.* 2010). Estes marcadores inflamatórios têm sido investigados como marcadores de risco cardiovascular e sua modulação tem um importante papel na fisiopatologia do IAM, estando diretamente relacionada com o estresse oxidativo (Casella Filho *et al.* 2003).

O oxigênio desempenha um papel determinante na função cardíaca, e a participação de radicais livres, em especial as espécies reativas de oxigênio (EROs), estão envolvidas na fisiopatologia do IAM e podem contribuir para o dano celular (Conner and Grisham 1996). No miocárdio, algumas condições cardíacas estressantes, como o IAM, levam a um desequilíbrio entre anti e pró-oxidante, chamado de estresse oxidativo. Este desequilíbrio causa anormalidades celulares, podendo levar a mudanças no miocárdio, diminuindo a contratilidade, conseqüentemente levando à IC (Singal *et al.* 1998). O estresse oxidativo pode também influenciar o transporte de glicose em cardiomiócitos (Horie *et al.* 2008).

O músculo cardíaco é caracterizado por uma alta taxa de consumo de glicose. A hipóxia é um estímulo para a translocação de GLUT4 para a membrana plasmática (Cartee *et al.* 1991) e o coração tende a entrar em isquemia profunda quando existe deficiência neste transportador (Tian and Abel 2001). A captação de glicose no coração durante a isquemia depende da gravidade da redução do fluxo sanguíneo (Lopaschuk and Stanley 1997).

Entretanto, indivíduos que sobrevivem a um IAM requerem cuidados clínicos contínuos, tendo alto custo para os sistemas de saúde. Com isso, alguns medicamentos são essenciais para melhorar, ou mesmo evitar, esse quadro. Entre as medicações que mais vêm sendo utilizadas, estão as estatinas, que demonstram melhores resultados na diminuição do colesterol e na prevenção de mortalidade e eventos cardiovasculares maiores (Durazzo *et al.* 2004; Castro *et al.* 2008). Por outro lado, o papel das estatinas na rota inflamatória, a partir do estresse oxidativo e transporte de glicose, de forma preventiva ou mesmo pós-insulto,

especificamente no tecido miocárdico, ainda não foi totalmente esclarecido (Ludman *et al.* 2009).

Para estudar as conseqüências e complicações envolvidas no IAM têm se utilizado modelo de ligadura da artéria coronária esquerda em ratos, pois os resultados deste procedimento apresentam muitas similaridades ao que ocorre após IAM em humanos. Baseado nessas considerações, o presente trabalho pretende contribuir com o entendimento dos efeitos no uso prévio das estatinas na função cardíaca, partindo deste modelo experimental de IAM.

## 2 INSUFICIÊNCIA CARDÍACA APÓS INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO

Infarto agudo do miocárdio é definido como necrose do tecido miocárdico resultante da oferta inadequada de oxigênio ao músculo cardíaco. Essa necrose ocorre pela obstrução do fluxo sanguíneo transitório ou permanente, levando à morte dos cardiomiócitos. Em geral, a isquemia miocárdica é causada por trombose, espasmos coronários, placas ateroscleróticas ou desequilíbrio de oferta e consumo de oxigênio. Complicações decorrentes do IAM incluem angina, pericardite, insuficiência cardíaca, comunicação interventricular e interatrial, rupturas das paredes do coração, rupturas de músculos papilares, trombose de átrio, arritmias, entre outras. A complicação mais temida ou mais prevalente é a IC.

Apesar dos avanços terapêuticos, a IC, causada pelo IAM, resulta em uma série de eventos metabólicos, sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade. Baseando-se no alto índice de mortes causadas por IAM, torna-se imprescindível a compreensão dos mecanismos que circundam esta injúria, abordando tanto as causas que possam contribuir para a injúria como a sua evolução.

Modelo animal de IAM tem sido utilizado para estudar suas conseqüências, mecanismos pelos quais elas ocorrem para, a partir destes conhecimentos, avaliar a contribuição de estratégias terapêuticas. Com isso, o IAM em ratos é muito usado para simular o remodelamento ventricular em humanos (Goldman and Raya 1995; Del Monte *et al.* 2002).

## 2.1 Patogênese e progressão do Infarto Agudo do Miocárdio

O IAM se dá através de uma falha mecânica, que é uma consequência devido à isquemia causada por uma obstrução da artéria coronária, interrompendo o fluxo sanguíneo para uma determinada área do miocárdio e levando à necrose. Na clínica, a interrupção do fluxo sanguíneo ocorre devido ao estreitamento de uma artéria coronária por ateroma (aterosclerose) que evolui para obstrução total da mesma por um coágulo sanguíneo (trombo). Isto não é exatamente o que se observa no modelo experimental de IAM por ligadura da artéria coronária.

Modelos de experimentação animal têm sido utilizados para simular o remodelamento ventricular que ocorre em humanos após um IAM e melhorar a compreensão dos mecanismos associados ao IAM. Em ratos, o IAM pode ser induzido pela oclusão da artéria coronária esquerda, o que resulta em necrose do tecido miocárdico de várias proporções (Pfeffer *et al.* 1979; Pfeffer and Braunwald 1990). A ligadura da artéria coronária resulta em uma seqüência uniforme de alterações miocárdicas levando a processo inflamatório na região infartada e no tecido remanescente, caracterizando nas primeiras horas edema e posteriormente deposição de colágeno, onde o tecido necrótico será substituído por tecido fibroso (Tavares *et al.* 2010).

A progressão da disfunção ventricular esquerda e IC em ratos é semelhante ao observado em pacientes que tiveram IAM e desenvolveram IC. Em ratos, a função cardíaca prejudicada pode ser determinada por ecocardiograma realizado após a ligadura da coronária (Goldman and Raya 1995). Estudo que avaliou ratos albinos durante 21 dias após ligadura da artéria coronária mostrou zona de fibras musculares necrosadas após 24 horas do procedimento, através de histologia. Entretanto, do dia 4 ao dia 21 após a oclusão, essa necrose foi gradualmente diminuindo, sendo substituída por tecido conjuntivo e

demonstrando um restabelecimento em 50% no tamanho inicial do IAM no 21º dia (Fishbein *et al.* 1978).

Na adaptação do miocárdio à perda de massa muscular ou sobrecarga de pressão, o coração sofre um processo conhecido como remodelamento ventricular, por afetar significativamente a função do ventrículo. Esse processo de remodelamento não ocorre de forma homogênea e, em resposta à agressão, pode haver um aumento da cavidade ventricular. A hipertrofia miocárdica é importante componente do remodelamento, que permite ao coração manter suas funções básicas, como transportar oxigênio e nutrientes para outras células do corpo e remover produtos do metabolismo, em vigência do aumento das condições de sobrecarga (Pfeffer and Braunwald 1990; Zornoff *et al.* 2002).

O remodelamento ventricular é influenciado pelas características morfológicas do infarto e da cicatrização, pelo estresse hemodinâmico e pelo aumento dos níveis de alguns moduladores, como IL-6 e TNF- $\alpha$ , desempenhando um papel fundamental na fisiopatologia da disfunção do ventrículo (Zornoff *et al.* 2009). Para se adaptar a essa nova condição, a região infartada modifica-se morfolologicamente e, após a reação inflamatória, a parte lesada começa a ser substituída por tecido fibroso (St John Sutton *et al.* 2003).

Os estudos que descreveram pioneiramente o remodelamento ventricular na progressão da IC utilizaram como modelo o desenvolvimento de IAM em ratos, no início da década de 80 (Pfeffer *et al.* 1979; Pfeffer *et al.* 1988). Estes estudos demonstraram que a oclusão aguda de uma artéria coronária, particularmente quando ocorrem lesões transmuralis de grandes proporções, resulta em alterações complexas da arquitetura ventricular. Estas alterações começam a se estabelecer imediatamente após a oclusão arterial, progredindo por várias semanas após o dano isquêmico inicial e levando a um processo de remodelamento, resultando em disfunção ventricular. (Pfeffer and Braunwald 1990). Sendo assim, um dos

principais mecanismos de adaptação ao infarto é o processo de hipertrofia cardíaca compensatória.

A função do ventrículo esquerdo depois de um IAM representa uma complexa interação entre fatores, como o estado da artéria coronária, *performance* do miocárdio, tamanho e localização do infarto, tamanho da hipertrofia da área não infartada, entre outros. Assim como a *performance* ventricular, que está relacionada à perda de extensão do miocárdio (Pfeffer *et al.* 1979), alterações no tamanho, massa, geometria e função do coração são fatores que podem definir o remodelamento ventricular (Cohn *et al.* 2000).

Alguns mecanismos podem explicar o aparecimento da disfunção ventricular, como modificações no trânsito de cálcio (Weber *et al.* 2003; Gelpi *et al.* 2009), aumento da morte celular (Saraste *et al.* 1997; Jiang *et al.* 2003) e do estresse oxidativo (Cesselli *et al.* 2001), déficit energético (Lopaschuk and Saddik 1992), acúmulo de colágeno (Du *et al.* 2003; Martos *et al.* 2007) e algumas alterações metabólicas. Mudanças na via  $\beta$ -adrenérgica (Xu *et al.* 2011), nas proteínas contráteis (del Monte *et al.* 1999), metaloproteinases (Yan *et al.* 2006; Kelly *et al.* 2007) e na geometria ventricular (Pfeffer and Braunwald 1990; Litwin *et al.* 1995) fazem parte destas alterações metabólicas.

Uma série de respostas compensatórias ocorre no ventrículo esquerdo após um IAM, pela perda do tecido muscular para preservar o débito cardíaco. A ação do mecanismo de *Frank-Starling* tende a manter a função de bomba do ventrículo esquerdo, apesar da perda abrupta do tecido contrátil (Iwasaka *et al.* 1992). A dilatação ventricular, embora represente um mecanismo eficiente de compensação, tem sido associada com uma diminuição de sobrevida. A expansão do infarto tende a aumentar o estresse da parede do miocárdio, levando ao seu afinamento. Esse processo serve como um estímulo para hipertrofia cardíaca, podendo também ser chamado de remodelamento (White *et al.* 1987). Um estudo clássico mostrou que

em ratos infartados, o peso do ventrículo esquerdo não foi alterado, apesar do afinamento das paredes. Entretanto, o peso do ventrículo direito aumentou (Pfeffer *et al.* 1979).

De forma geral, o processo de dilatação ventricular pode ser influenciado por três fatores interdependentes: o tamanho do infarto, o estresse sobre a parede ventricular e o processo de cicatrização tecidual (Rumberger *et al.* 1993). Sendo assim, um dos meios mais eficientes de evitar ou minimizar o aumento nas dimensões ventriculares após um infarto é através da limitação do dano isquêmico.

Estudos experimentais vêm demonstrando que o uso de inibidores da enzima de conversão da angiotensina (ECA) está associado com uma relevante redução da dilatação ventricular (Mill *et al.* 1997; Bregagnollo *et al.* 2005; Angeli *et al.* 2009), aumentando a função do ventrículo esquerdo e a massa ventricular remanescente, podendo aumentar a sobrevida após o IAM (Epifanio *et al.* 2005). Essa redução da dilatação ventricular com o uso dos inibidores da ECA foi também mostrada em humanos (Oigman and Neves 2000; Barretto 2001; Egami *et al.* 2010), reduzindo a mortalidade em pacientes com IAM e vários graus de disfunção sistólica do ventrículo esquerdo (The SOLVD 1992).

As fibras de colágeno são importantes constituintes do miocárdio, contribuindo para manutenção da geometria ventricular e da estrutura de conexão dos miócitos. Alterações na estrutura e composição do colágeno têm sido relatadas em diversos tipos de doenças miocárdicas, podendo influenciar a geometria do ventrículo esquerdo (Farahmand *et al.* 2008).

Em modelo experimental, a atividade colagenolítica, após um IAM, é detectada de 6 horas a 28 dias após a ligadura da artéria coronária esquerda, apresentando um pico característico no 7º dia após o infarto. A partir do 8º dia, é visível a formação de tecido fibroso, havendo um aumento transitório na atividade colagenolítica no ventrículo infartado,



ou seja, existe um acúmulo de colágeno nas áreas de infarto, levando à fibrose e conseqüentemente, comprometendo a função ventricular (Cleutjens *et al.* 1995).

A regulação na síntese de colágeno no IAM é diferente nas áreas infartadas e não infartadas. Na área infartada a deposição de colágeno é parte de uma resposta da cura da lesão, podendo ser desencadeada pelo alongamento cíclico desta lesão. Já na área não infartada, pode ser considerada como um fator de circulação local, envolvendo o sistema renina- angiotensina-aldosterona, que está envolvido na regulação da deposição do colágeno (Lindpaintner and Ganten 1991; Cleutjens *et al.* 1995).

## **2.2 Papel da modulação imunoinflamatória**

A modulação imunoinflamatória tem papel fundamental relacionado à fisiopatologia do IAM (Roivainen *et al.* 2000) e sua associação com o estresse oxidativo (Kaur *et al.* 2006). Em diversas formas de IC, o aumento de marcadores inflamatórios séricos tem sido investigado como marcador de risco cardiovascular, como as citocinas, que são mediadoras de inflamação (Ridker *et al.* 2000; Ridker *et al.* 2000; Lopes *et al.* 2010). Entre esses marcadores inflamatórios temos citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), e citocinas antiinflamatórias, como a interleucina-10 (IL-10).

A IL-6 desempenha um papel complexo na regulação e propagação da resposta imune, estando relacionada com a gravidade das doenças (Gullestad *et al.* 1999). É um marcador de forte prognóstico de morbidade e mortalidade de pacientes com IC e em pacientes após IAM (Rattazzi *et al.* 2003). Além disso, a IL-6 regula a expressão de outras citocinas inflamatórias, como IL-1 e TNF- $\alpha$  e encontra-se em concentrações séricas elevadas, em situações de IAM, sinalizando o início do processo inflamatório (Karpinski *et al.* 2008). Em indivíduos saudáveis, os níveis elevados de IL-6 estão associados com um aumento de

risco para futuros infartos (Ridker *et al.* 2000). Um estudo (Gullestad *et al.* 1999), feito com administração de enalapril, um inibidor da ECA, mostrou que doses elevadas (40mg/dia) deste fármaco diminuem os níveis de IL-6, quando comparado a doses mais baixas (5mg/dia), estando associado com a diminuição da espessura do septo interventricular. Segundo o autor, a diminuição dos níveis de IL-6 pode também estar relacionada à ativação de citocinas, podendo ter efeito sobre a contratilidade miocárdica e o remodelamento ventricular.

O TNF- $\alpha$  é uma das citocinas mais estudadas na busca de uma associação entre a modulação imunoinflamatória e a fisiopatologia da IC. Esta citocina tem um papel central na inicialização e sustentação da resposta inflamatória, aumentando sua expressão após o IAM (Chen *et al.* 2011). Os níveis elevados de TNF- $\alpha$  estão associados a eventos recorrentes coronarianos em pacientes pós-IAM (Ridker *et al.* 2000). Assim como outras citocinas, o TNF- $\alpha$  tem sua transcrição gênica ativada pelo dímero p50/p65 do Fator Nuclear Kappa Beta (NFk-B), que se transloca para o núcleo, onde ativa também transcrição de genes que possuem em seus promotores, elementos de resposta kB, ou seja, que sejam regulados pelo NFk-B. Este fator se encontra na forma heterodímera, inativo no citoplasma, ligado a proteínas inibidoras denominadas genericamente de I $\kappa$ B (Inibidores Kappa Beta). Quando a célula é estimulada, o I $\kappa$ B se fosforila sinalizando a sua degradação proteolítica (Ritchie 1998).

Ao contrário da IL-6 e TNF- $\alpha$ , a IL-10 é uma citocina que demonstra propriedades antiinflamatórias, inibindo a produção de outras citocinas, como o próprio TNF- $\alpha$  (Bolger *et al.* 2002). A IL-10 também atua como um antagonista natural do TNF- $\alpha$  por inibição do NFk-B (Schottelius *et al.* 1999). Estudos mostraram que a diminuição na razão IL-10/TNF- $\alpha$  é associada com a progressão da IC pós-IAM (Kaur *et al.* 2006). Além disso, em um estudo realizado com cardiomiócitos isolados de ratos com 7 dias de infarto, foi possível observar

que houve associação entre a queda da razão IL-10/TNF- $\alpha$  e a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) na progressão da IC (Kaur *et al.* 2006).

Um estudo experimental, feito com terapia celular pós-IAM, mostrou uma redução no TNF- $\alpha$  e IL-6 (Tavares *et al.* 2010). Estas análises foram feitas 48 horas depois da oclusão da artéria coronária, demonstrando que a terapia celular é capaz de interferir no processo inflamatório após o IAM e que o desequilíbrio redox pode ser um mediador desse processo, aumentando o estresse oxidativo no tecido miocárdico dos animais infartados.

As citocinas inflamatórias podem ter um papel relevante no desenvolvimento e progressão da IC (Byrkjeland *et al.* 2011). Níveis elevados de TNF- $\alpha$  foram demonstrados em pacientes com IC e com uma tendência a aumentar progressivamente, conforme a gravidade da doença (Torre-Amione *et al.* 1996). Estudos preliminares com estatinas demonstraram uma diminuição nas citocinas inflamatórias TNF- $\alpha$  e IL-6, e um aumento na fração de ejeção do ventrículo esquerdo, mostrando que as estatinas podem ter efeitos antiinflamatórios no tratamento da IC, podendo melhorar o remodelamento ventricular (Node *et al.* 2003; Sola *et al.* 2006).

### **2.3 Estresse oxidativo**

Estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio entre a formação e remoção de agentes oxidantes no organismo, ou seja, desequilíbrio entre anti e pró-oxidante. Esse desequilíbrio é decorrente da diminuição de antioxidantes e/ou da formação excessiva de EROs, que são radicais livres provenientes do metabolismo do oxigênio (Singal *et al.* 2000).

Radical livre refere-se à elétrons desemparelhados na sua última camada, levando a um alto poder reativo. Uma das principais fontes de radicais livres é o oxigênio, que é produzido naturalmente em nosso organismo através de processos metabólicos oxidativos. A

maior parte do oxigênio consumido, 95-98%, é utilizada pelas mitocôndrias e reduzido a água. Quando parte desse oxigênio não consegue se transformar em água, 2-5%, transforma-se em EROs, o que pode resultar em dano tecidual (Schneider and Oliveira 2004).

A IC é uma doença multifatorial caracterizada pela incapacidade do coração de manter débito cardíaco adequado frente às demandas do organismo. É uma síndrome que pode ser resultante de distúrbio funcional e/ou estrutural do coração, cuja capacidade de bombeamento (enchimento e/ou ejeção) esteja comprometida (Barretto and Ramires 1998). Assim, qualquer situação que diminua a contratilidade do miocárdio, como doença aterosclerótica, isquemia cardíaca, IAM, hipertensão arterial não tratada, entre outras, pode levar à IC. Além disso, estudos apontam que a participação dos radicais livres, especialmente das EROs, podem contribuir para o surgimento da IC (Conner and Grisham 1996; Singal *et al.* 1998)).

O desequilíbrio entre a atividade pró e antioxidante no miocárdio foi associado à IC, em particular em um estudo feito com ratos, onde foram avaliados atividade antioxidante e estresse oxidativo após 1, 4, 8 e 16 semanas de IAM por oclusão da artéria coronária. O estado redox nos corações infartados foi aumentado através da redução da GPx e da CAT, que são enzimas antioxidantes. Por sua vez, a atividade da SOD diminuiu somente após 16 semanas depois do IAM (Hill and Singal 1996). A relação do estresse oxidativo com a contratilidade miocárdica também foi analisada por Silva e cols. Os autores demonstraram uma diminuição da atividade antioxidante levando a um aumento do estresse oxidativo associado com redução da contratilidade miocárdica (Silva *et al.* 2005). Reforçando esta idéia, outros estudos relacionaram alterações morfológicas, como hipertrofia, apoptose dos cardiomiócitos e disfunção da contratilidade miocárdica, com a expressão das isoformas do óxido nítrico sintase (NOS): NOS endotelial (eNOS) (Smith *et al.* 2005) e NOS induzida (iNOS) (Stein *et al.* 1998).

No miocárdio, algumas condições cardíacas estressantes levam a uma diminuição de reservas antioxidantes, sendo associadas ao aumento do estresse oxidativo, podendo levar a mudanças cardiovasculares, diminuindo a contratilidade e contribuindo para o surgimento da IC. O acúmulo de danos oxidativos tende a resultar em morte excessiva de células (Chiarugi 2009). Contudo, uma reserva de antioxidantes pode oferecer proteção contra alterações miocárdicas causadas pelo estresse oxidativo (Singal *et al.* 1998).

Uma revisão clássica (Antozzi and Zeviani 1997), descreve a importância das bases moleculares e bioquímicas para o entendimento de cardiomiopatias primárias e as subdividem em dois grupos: resposta à desordens da contratilidade do miocárdio e de proteínas contráteis e à desordens no metabolismo energético cardíaco. Contudo, os defeitos nos processos de fosforilação oxidativa na mitocôndria e de  $\beta$ -oxidação são as principais causas metabólicas da cardiomiopatia. Devido a estas alterações metabólicas, é possível inferir que as modificações nos processos de oxi-redução que ocorrem na célula e, conseqüentemente, no estresse oxidativo ao qual este órgão está submetido, podem ser responsáveis por parte do processo de remodelamento ventricular.

Em um experimento realizado com porcos, através de sobrecarga progressiva, foi demonstrado o aparecimento de hipertrofia cardíaca 10 dias após este procedimento, sendo que os sinais de insuficiência cardíaca apareceram somente 20 dias após a mesma. A hipertrofia cardíaca faz parte de um processo de resposta adaptativa, sendo uma fase de transição para um quadro de insuficiência cardíaca. Neste estudo, as evidências sugerem que o déficit da capacidade antioxidante do miocárdio, assim como seu estado redox, também participa da patogênese da IC de forma precoce (Randhawa and Singal 1992).

Em outro estudo, sobre índices de lipoperoxidação (LPO) e atividade antioxidante (GPx e vitamina C) em pacientes com diferentes graus de insuficiência cardíaca congestiva, encontrou um progressivo aumento de danos induzidos por radicais livres e diminuição das

reservas antioxidantes diretamente proporcionais ao grau da IC. Com isso, o autor sugere que a suplementação com antioxidantes pode melhorar a função ou sobrevivência dos miócitos (Keith *et al.* 1998).

#### **2.4 Sistema energético e os transportadores de glicose**

O IAM leva à dilatação ventricular esquerda e hipertrofia do tecido miocárdico remanescente. Uma hipótese para explicar o remodelamento é a deficiência energética do miocárdio. Modificações compensatórias ocorrem tanto em nível protéico como na expressão gênica de proteínas que agem no metabolismo dos cardiomiócitos (Remondino *et al.* 2000; Murray *et al.* 2006).

A produção de ATP no miocárdio é importante para preservar a viabilidade cardíaca durante a isquemia (Cave *et al.* 2000) e para a manutenção do débito cardíaco pós-IAM. Em uma clássica revisão, Opie (1972) aborda que dentre as vias metabólicas como ATP-CP (adenosina trifosfato - creatina fosfato), glicólise e oxidação de AGL (ácidos graxos livres), a mais importante para o geração de energia no tecido muscular cardíaco é a glicólise, uma vez que o sistema ATP-CP tem curta duração e a energia proveniente da oxidação dos AGL trás consigo a formação de radicais livres de O<sub>2</sub>, aumento no consumo de oxigênio pelo miocárdio e menor geração de ATP (Opie 1972).

Como o músculo cardíaco é caracterizado por uma alta taxa de consumo de glicose, se o aporte deste substrato for insuficiente, a oxidação dos AGL no miocárdio será predominante. A captação de glicose pelo músculo cardíaco é feita pelos transportadores de glicose (GLUTs). Os GLUTs são proteínas de membrana cuja função é transportar glicose do meio extracelular para o interior das células, através da membrana plasmática, por difusão facilitada (Machado *et al.* 2006). Essas proteínas foram denominadas em ordem cronológica

de caracterização e são expressas desta forma no tecido e célula-específica (Uldry and Thorens 2004). O GLUT4 é expresso no tecido cardíaco, muscular esquelético e adiposo, sendo o transportador de glicose mais abundante do organismo (Ploug *et al.* 1998).

Os cardiomiócitos expressam dois transportadores de glicose GLUT1 e GLUT4, este último mais importante do ponto de vista quantitativo (Kraegen *et al.* 1993; Zorzano *et al.* 1997). Em sua forma basal, o GLUT4 está localizado em compartimentos intracelulares e a sua translocação para a membrana plasmática ocorre, primariamente, sob estímulo insulínico, sendo assim denominado transportador de glicose insulino-sensível (Machado 1998). Contudo, existem outros fatores que também aumentam a concentração de GLUT4 na membrana plasmática, como treinamento físico (Lehnen *et al.* 2010) e hipóxia (Cartee *et al.* 1991).

De uma forma geral, o IAM causa um desequilíbrio no sistema energético do coração em todas as vias metabólicas. Um estudo feito com ratos Wistar, onde foi realizada a oclusão da artéria coronária descendente esquerda levando ao IAM, mostrou que 8 semanas após a lesão cardíaca, o grupo infartado apresentou menores níveis de creatina-fosfato bem como menores níveis de creatina quinase e creatina livre no citosol dos cardiomiócitos, em relação ao grupo sham (Neubauer *et al.* 1995). A diminuição de substratos de energia anaeróbia, como a creatina-fosfato, tem consequências diretas na produção de ATP, principalmente em demandas de ajuste imediato da contratilidade cardíaca.

Por sua vez, após um IAM, em longo prazo a glicólise também diminui, determinada possivelmente pela menor captação de glicose pelos cardiomiócitos. Em estudo experimental com ratos, observou-se uma diminuição nos níveis de GLUT4, diminuindo a captação de glicose e, por consequência, menor produção de ATP via glicólise após 10 semanas de IAM (Murray *et al.* 2006). Outro estudo, também com este modelo, observou-se que um dia após a oclusão da coronária não houve diferença na oxidação da glicose e/ou do palmitato. Neste

período, os níveis de expressão do GLUT1 aumentaram no grupo infartado provavelmente como um sistema de compensação para captação de glicose, uma vez que no mesmo período houve uma diminuição da expressão do GLUT4, em relação ao grupo sham. Oito semanas após o IAM, os níveis de GLUT1 e GLUT4 não mostraram diferenças em relação ao grupo sham. Neste período foi constatada uma hipertrofia do tecido remanescente e a oxidação da glicose foi aumentada em ~84%, comparanda com os corações controles (Remondino *et al.* 2000). Os efeitos adversos do IAM sobre a captação de glicose também foram observados em ratos diabéticos. Animais diabéticos (induzidos por estreptozotocina) que sofreram IAM, apresentaram uma diminuição de GLUT4 em comparação aos ratos controles, avaliados 15 dias após a lesão cardíaca (Malfitano *et al.*). Efeito similar também foi encontrado em humanos (Dutka *et al.* 2006).

Coletivamente, esses dados mostram que a lesão cardíaca pode sobrecarregar alguns sistemas metabólicos a fim de manter energia para contratilidade miocárdica adequada. Entretanto, algumas adaptações negativas, como menor expressão de GLUT4 nos cardiomiócitos, podem determinar menor reserva energética e modificar a fonte energética, preponderando a oxidação dos AGL (Remondino *et al.* 2000).

A menor quantidade de GLUT4 pode levar a uma menor utilização de energia proveniente da glicólise, e por consequência, aumento da oxidação de AGL. Isso leva a uma maior formação de EROs aumentando o EO. Por sua vez, foi relatado que a indução de EO através do estímulo de cardiomiócitos com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi capaz de aumentar a translocação de GLUT4. Este estímulo também foi capaz de ativar a proteína quinase B fosforilada (Akt) e a sua inibição diminuiu a translocação de GLUT4 para a superfície celular (Horie *et al.* 2008). Este processo pode ser um mecanismo de compensação a fim de restabelecer a energia proveniente da glicólise e diminuir a utilização dos AGL.



O uso de inibidores da ECA está associado com o remodelamento ventricular após o IAM. O uso de inibidores da ECA tem sido associado com melhora da resistência à insulina por aumentar a captação de glicose em células musculares esqueléticas via sistema bradicinina-NO e aumento de translocação de GLUT4 (Shiuchi *et al.* 2002). Em modelo de coração isolado, um estudo comparou o efeito da bradicinina com o efeito da insulina sobre a translocação de transportadores de glicose no coração, concluindo que a bradicinina promove maior translocação de GLUT1 e GLUT4 para a membrana plasmática (Rett *et al.* 1996). Os inibidores da ECA, quando utilizados em pacientes com IAM, podem atenuar e até mesmo prevenir o remodelamento ventricular, reduzir a incidência de posterior IC, melhorar a qualidade de vida e a capacidade funcional, reduzir sintomas, prevenir um reinfarcto e aumentar a sobrevida (Piegas 2004).

Um estudo feito em corações isolados de ratos, submetidos à isquemia e reperfusão, avaliou os efeitos da insulina associada com captopril sobre os efeitos das vias de sinalização da insulina/angiotensina e função cardíaca. Este estudo mostrou que a insulina aumentou a expressão de Akt e adenosina monofosfato (AMPK) e inibiu os efeitos deletérios da angiotensina-I durante a isquemia e reperfusão, podendo melhorar o metabolismo do miocárdio. O captopril também inibiu os efeitos deletérios da angiotensina-I, porém quando associado com a insulina não potencializou esses efeitos (Oliveira *et al.* 2011).

### 3 ESTATINAS

As estatinas são agentes hipolipemiantes, responsáveis pela diminuição dos níveis plasmáticos de colesterol através da captação de LDL (*low density lipoprotein*). Isso ocorre pela inibição seletiva e competitiva da 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima-A redutase (HMG-CoA redutase), responsável pela síntese de colesterol (Igel *et al.* 2002). O HMG-CoA redutase é um dos fatores de transcrição responsável pela produção de receptores de LDL, com conseqüente aumento da absorção e catabolismo do LDL (Jones and Farmer 2008).

Estudos demonstram que a estatinas reduzem morbidade e mortalidade em pacientes com diferentes perfis de risco cardiovascular, através dos seus efeitos benéficos como prevenção primária e secundária (Downs *et al.* 1998; Group. 1998; Pedersen *et al.* 1998; WOSCOPS 1998; Nakamura 2007). As estatinas reduzem eventos cardíacos em pacientes dislipidêmicos ou mesmo naqueles com níveis moderadamente elevados de colesterol, podendo melhorar ou mesmo reverter lesões vasculares (Piegas 2004). Neste contexto, as estatinas vêm se mostrando úteis em restaurar a função endotelial e proteger contra complicações de doenças ateroscleróticas, tanto na prevenção primária, quanto na secundária (Saad 2004; Sharma *et al.* 2009). Além do seu clássico efeito hipolipemiante, as estatinas têm efeitos pleiotrópicos, ou seja, efeitos não lipídicos (Castro *et al.* 2008). Dentre estes efeitos, as estatinas já mostraram ter propriedades antiinflamatórias e antioxidantes, pelas ações imunomoduladoras e antitrombogênica e pela melhora da disfunção endotelial, ou seja,

efeitos não lipídicos que andam paralelos à redução da hipercolesterolemia (Endres *et al.* 1998; Wolfrum *et al.* 2003; Jones and Farmer 2008; Furuya *et al.* 2009).

As estatinas diferem entre si quanto a sua solubilidade, absorção e excreção, e podem ser classificadas por hidrofiliicidade, eficácia e farmacologia (tabela 1). Entre as estatinas lipofílicas estão a simvastatina, cerivastatina, lovastatina, fluvastatina e atorvastatina. A rosuvastatina e a pravastatina são consideradas hidrofílicas (Vaughan and Gotto 2004).

Tabela 1. Eficácia e farmacologia das estatinas

Estatina	Redução CT (%)	Redução LDL-c (%)	Aumento HDL-c (%)	Redução TG (%)	Hidrofílica
Atorvastatina	25-45	26-60	5-13	17-53	não
Fluvastatina	16-27	22-36	3-11	12-25	não
Lovastatina	16-34	21-42	2-10	6-27	não
Pravastatina	16-25	22-34	2-12	15-24	sim
Rosuvastatina	33-46	45-63	8-14	10-35	sim
Simvastatina	19-36	26-47	8-16	12-34	não

CT- colesterol total; LDL-c- lipoproteína de baixa densidade; HDL-c - lipoproteína de alta densidade; TG - triglicerídios. Adaptado de Vaughan e Gotto (2003).

A atorvastatina, administrada 24 horas após o IAM durante 4 semanas, causa um equilíbrio entre as citocinas pró e anti-inflamatórias, diminuindo os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 e aumentando os níveis de IL-10. Esse equilíbrio leva a um melhor remodelamento ventricular, melhorando a função sistólica do ventrículo esquerdo (Stumpf *et al.* 2009).

Um estudo feito em adipócitos *in vitro* examinou os efeitos da atorvastatina e pravastatina na captação de glicose sobre o processo de transdução de sinal da insulina. Neste estudo foi demonstrado que o pré-tratamento destas células com atorvastatina diminuiu a captação de glicose mediada por insulina, o que não ocorreu no pré-tratamento com pravastatina. Essas alterações foram em razão da diminuição do conteúdo de GLUT4 na

membrana plasmática do grupo com atorvastatina, o que não ocorreu com a pravastatina. Essas diferenças poderiam ser atribuídas ao fato da atorvastatina ser um composto hidrofóbico, portanto permeável na célula, inibindo a HMG-CoA redutase, enquanto a pravastatina é um composto hidrofílico (Takaguri *et al.* 2008).

Estatinas hidrofóbicas (atorvastatina, fluvastatina, simvastatina, lovastatina e cerivastatina), induzem apoptose, segundo um estudo feito em ratos (Kaneta *et al.* 2003). Estes efeitos pleiotrópicos, como apoptose, propriedades antiinflamatórias, ação antitrombogênica e melhora da função endotelial, possibilitaram pensar no uso das estatinas como terapia coadjuvante na síndrome coronariana aguda. O *Myocardial Ischemia Reduction with Aggressive Cholesterol Lowering* (MIRACL) e o *Thrombolysis In Myocardial Infarction* (TIMI-22) são importantes ensaios clínicos prospectivos controlados que apresentaram evidências consistentes sobre a administração de estatinas como terapia adjuvante em síndromes isquêmicas agudas (Olsson *et al.* 2007).

Ensaio clínicos mostram que a administração precoce de estatinas (nos primeiros dias e em altas doses) em pacientes com síndrome coronariana aguda leva à redução significativa de óbito, IAM e reinternação por novo episódio desta síndrome. Estes benefícios foram bem mais evidenciados em longo prazo, apesar de alguns destes estudos apontarem algum benefício já nas primeiras semanas (Schwartz *et al.* 2001; Ray *et al.* 2005). As estatinas podem suprimir, parcialmente, marcadores inflamatórios em pacientes com IC. Porém, este efeito benéfico pode ser associado a diferentes tipos de estatinas, tempo de tratamento e características dos pacientes (Zhang *et al.* 2010).

Terapia com as altas doses de estatinas, quando comparadas com terapia convencional, reduz em 30 dias os eventos após síndromes coronarianas agudas, diminuindo os pacientes em risco, provavelmente devido aos seus efeitos pleiotrópicos (Ray *et al.* 2005). Sendo assim, é recomendado que o tratamento de pacientes com síndromes coronarianas deve

começar no hospital incluindo altas doses de estatinas e ser mantido em longo prazo. Um estudo iniciado durante a fase aguda de angina instável ou IAM, mostrou que pacientes tratados com atorvastatina tiveram um baixo risco de isquemia sintomática e eventos isquêmicos recorrentes, e reduziram o risco de eventos isquêmicos recorrentes nas primeiras 16 semanas (Schwartz *et al.* 2001).

Não existe um consenso na utilização de estatinas nos primeiros dias após evento característico de IAM, entretanto, é recomendado o seu uso nas primeiras semanas após uma síndrome coronariana aguda. A dose inicial não está completamente definida, apesar de estudos apontarem doses elevadas de atorvastatina (80 mg/dia), simvastatina (40 mg/dia) e pravastatina (40 mg/dia) (Grundy *et al.* 2004).

Além do clássico efeito hipocolesterolêmico, as estatinas podem ter um efeito favorável sobre a pressão arterial, principalmente em pacientes com pressão arterial sistólica elevada. Este efeito anti-hipertensivo pode ocorrer independente da idade e pode reduzir efeitos cardiovasculares (Strazzullo *et al.* 2007; Correa *et al.* 2010). O estado inflamatório é característica comum em indivíduos com hipertensão associada à obesidade e, segundo o autor, o efeito anti-hipertensivo das estatinas, pode ocorrer através das propriedades anti-inflamatórias destes fármacos. Em contrapartida, uma análise *post-hoc* de um longo estudo, de 2,6 anos, com mais de 500 pacientes com hipertensão leve e hipercolesterolemia, feito em 13 hospitais da Itália, onde foi administrado 40 mg por dia de atorvastatina, não demonstrou qualquer efeito das estatinas sobre a pressão arterial (Mancia *et al.* 2010).

Outra ação das estatinas está relacionada com o aumento da atividade de NOS. A pitavastatina preserva a função endotelial em artérias coronárias e arteríolas na presença de hipercolesterolemia, aumentando o nível de NOS e reduzindo o estresse oxidativo, além de minimizar a susceptibilidade à oxidação de LDL (Kumai *et al.* 2004). A cerivastatina, administrada em pacientes diabéticos do tipo 2 com dislipidemia, melhorou a resistência

vascular em resposta à acetilcolina somente após inibição da NOS, indicando, provavelmente, uma melhor resposta do fator hiperpolarizante derivado do endotélio (Tran *et al.* 2005).

Em um estudo experimental, utilizando ratos Wistar, foram observados efeitos terapêuticos da rosuvastatina administrada 2 dias antes do insulto e avaliados 10 semanas pós-IAM; houve uma melhora da disfunção endotelial e uma redução da agregação plaquetária (Schafer *et al.* 2005). Em ratos normocolesterolêmicos, a administração de rosuvastatina antes da indução de isquemia miocárdica, aumentou a eNOS, diminuiu iNOS e o dano vascular endotelial (Di Napoli *et al.* 2005).

Em outro estudo, foi utilizada fluvastatina precocemente (14 dias antes do insulto) com o objetivo de avaliar uma possível ação cardioprotetora, de “varredura” (*scavenger*) de radicais livres, atenuando a lesão pós-isquemia e reperfusão. Os resultados indicaram que o tratamento prévio com fluvastatina reduz a área de infarto, independente da ação hipolipemiante, podendo ter atenuado a lesão miocárdica principalmente via óxido nítrico (NO), mas não por suas propriedades antioxidantes, embora não tenha sido realizada nenhuma análise de enzimas antioxidantes. Foi avaliado apenas um único marcador para avaliar estresse oxidativo, o 8-hidroxideoxiguanosina (8-OHdG), que tem a capacidade de mostrar apenas dano oxidativo ao DNA induzido por espécies reativas de oxigênio (ERO) (Matsuki *et al.* 2006).

O tratamento com atorvastatina pós-IAM em camundongos demonstrou queda de 40% na mortalidade durante as 4 semanas e revelou um aumento da concentração da eNOS, que foi relacionado com uma maior neovascularização na zona de borda infartada (Gonzalez Flecha *et al.* 1991). Outro estudo atual (Furuya *et al.* 2009), feito em modelo de obesidade animal induzida por glutamato monossódico, mostrou que a atorvastatina administrada por 4 semanas, avaliada por plasma, reverte a inflamação e os níveis de GLUT4 no tecido adiposo em camundongos obesos resistentes à insulina.

Coletivamente, as estatinas reduzem níveis plasmáticos de colesterol, diminuindo a entrada das lipoproteínas modificadas pela parede vascular. Existem cada vez mais evidências de que as estatinas também podem exercer efeitos além da diminuição dos níveis séricos de colesterol. Entretanto, muitos dos seus efeitos pleiotrópicos parecem estar envolvidos na restauração ou melhora da função endotelial através do aumento da biodisponibilidade do NO, promovendo a reendotelização, reduzindo estresse oxidativo e inibindo respostas inflamatórias (Wolfrum *et al.* 2003).

#### **4 JUSTIFICATIVA**

Embora estudos mostrem diversos efeitos, que não apenas os hipolipemiantes das estatinas, sua ação específica sobre determinadas citocinas inflamatórias e sobre o transporte de glicose ainda não foi totalmente explorada.

Há uma importante lacuna no conhecimento a respeito do que ocorre entre o insulto cardíaco e o início do remodelamento ventricular no que tange a correlação entre parâmetros de função cardíaca, processo inflamatório e o transporte de glicose.



## **5 HIPÓTESE**

O uso de estatinas, 14 dias antes do insulto e 7 dias após o IAM, poderia modular a liberação de citocinas pró-inflamatórias como TNF- $\alpha$  e IL-6. Desta forma, aumenta a capacidade do transporte de glicose, podendo influenciar no remodelamento ventricular.

## **6 OBJETIVOS**

### **6.1 Geral**

Avaliar a resposta inflamatória e o conteúdo da proteína GLUT4 em ratos Wistar-Kyoto submetidos ao tratamento preventivo com estatinas durante 14 dias antes do infarto e/ou 7 dias após o IAM.

### **6.2 Específicos**

1. Avaliar o efeito do uso de atorvastatina.
2. Avaliar função cardíaca e área de infarto.
3. Analisar, quantitativamente, as citocinas inflamatórias TNF- $\alpha$  e IL-6
4. Avaliar a expressão de GLUT4 nas frações microsomal e membrana plasmática no coração de ratos infartados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA BASE TEÓRICA

- Angeli FS, Shapiro M, Amabile N, Orcino G, Smith CS, Tacy T, et al. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: characterization of a swine model on beta-blocker therapy. *Comp Med* 2009;59:272-279.
- Antozzi C, Zeviani M. Cardiomyopathies in disorders of oxidative metabolism. *Cardiovasc Res* 1997;35:184-199.
- Barretto AC. Reversibility of ventricular dysfunction. Clinical experience in a medical office. *Arq Bras Cardiol* 2001;77:541-548.
- Barretto ACP, Ramires JAF. Insuficiência Cardíaca. *Arq Bras Cardiol* 1998;71:
- Bolger AP, Sharma R, von Haehling S, Doehner W, Oliver B, Rauchhaus M, et al. Effect of interleukin-10 on the production of tumor necrosis factor-alpha by peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic heart failure. *Am J Cardiol* 2002;90:384-389.
- Bregagnollo EA, Okoshi K, Bregagnollo IF, Padovani CR, Okoshi MP, Cicogna AC. [Effects of the prolonged inhibition of the angiotensin-converting enzyme on the morphological and functional characteristics of left ventricular hypertrophy in rats with persistent pressure overload]. *Arq Bras Cardiol* 2005;84:225-232.
- Byrkjeland R, Nilsson BB, Westheim AS, Arnesen H, Seljeflot I. Inflammatory markers as related to disease severity in patients with chronic heart failure: Limited effects of exercise training. *Scand J Clin Lab Invest* 2011;
- Cartee GD, Douen AG, Ramlal T, Klip A, Holloszy JO. Stimulation of glucose transport in skeletal muscle by hypoxia. *J Appl Physiol* 1991;70:1593-1600.

- Casella Filho A, Araújo R, Galvão T, Chagas A. Inflamação e Aterosclerose: Integração de Novas Teorias e Valorização dos Novos Marcadores. *Rev Bras Cardiol Invas* 2003;11:15-19.
- Castro PF, Miranda R, Verdejo HE, Greig D, Gabrielli LA, Alcaino H, et al. Pleiotropic effects of atorvastatin in heart failure: role in oxidative stress, inflammation, endothelial function, and exercise capacity. *J Heart Lung Transplant* 2008;27:435-441.
- Cave AC, Ingwall JS, Friedrich J, Liao R, Saupe KW, Apstein CS, et al. ATP synthesis during low-flow ischemia: influence of increased glycolytic substrate. *Circulation* 2000;101:2090-2096.
- Cesselli D, Jakoniuk I, Barlucchi L, Beltrami AP, Hintze TH, Nadal-Ginard B, et al. Oxidative stress-mediated cardiac cell death is a major determinant of ventricular dysfunction and failure in dog dilated cardiomyopathy. *Circ Res* 2001;89:279-286.
- Chen Y, Zhang Q, Liao YH, Cao Z, Du YM, Xia JD, et al. Effect of Tumor Necrosis Factor-alpha on Neutralization of Ventricular Fibrillation in Rats with Acute Myocardial Infarction. *Mediators Inflamm* 2011;2011:565238.
- Chiarugi P. Survival or death: the redox paradox. *Antioxid Redox Signal* 2009;11:2651-2654.
- Cleutjens J, Kandala J, Guarda E, Guntaka R, Weber K. Regulation of collagen degradation in the rat myocardium after infarction. *J Mol Cell Cardiol* 1995;27:1281-1292.
- Cleutjens JP, Verluyten MJ, Smiths JF, Daemen MJ. Collagen remodeling after myocardial infarction in the rat heart. *Am J Pathol* 1995;147:325-338.
- Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:569-582.
- Conner EM, Grisham MB. Inflammation, free radicals, and antioxidants. *Nutrition* 1996;12:274-277.

- Correa V, Jr., Gus M, Fuchs FD. Does the blood pressure-lowering effect of statins contribute to their beneficial cardiovascular effects? *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2010;8:775-779.
- Del Monte F, Butler K, Boecker W, Gwathmey JK, Hajjar RJ. Novel technique of aortic banding followed by gene transfer during hypertrophy and heart failure. *Physiol Genomics* 2002;9:49-56.
- del Monte F, Harding SE, Schmidt U, Matsui T, Kang ZB, Dec GW, et al. Restoration of contractile function in isolated cardiomyocytes from failing human hearts by gene transfer of SERCA2a. *Circulation* 1999;100:2308-2311.
- Di Napoli P, Taccardi AA, Grilli A, De Lutiis MA, Barsotti A, Felaco M, et al. Chronic treatment with rosuvastatin modulates nitric oxide synthase expression and reduces ischemia-reperfusion injury in rat hearts. *Cardiovasc Res* 2005;66:462-471.
- Downs JR, Clearfield M, Weis S, Whitney E, Shapiro DR, Beere PA, et al. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study. *Jama* 1998;279:1615-1622.
- Du XJ, Samuel CS, Gao XM, Zhao L, Parry LJ, Tregear GW. Increased myocardial collagen and ventricular diastolic dysfunction in relaxin deficient mice: a gender-specific phenotype. *Cardiovasc Res* 2003;57:395-404.
- Durazzo AE, Machado FS, Ikeoka DT, De Bernoche C, Monachini MC, Puech-Leao P, et al. Reduction in cardiovascular events after vascular surgery with atorvastatin: a randomized trial. *J Vasc Surg* 2004;39:967-975; discussion 975-966.
- Dutka DP, Pitt M, Pagano D, Mongillo M, Gathercole D, Bonser RS, et al. Myocardial glucose transport and utilization in patients with type 2 diabetes mellitus, left

- ventricular dysfunction, and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:2225-2231.
- Egami Y, Nishino M, Taniike M, Makino N, Kato H, Shutta R, et al. Renin-angiotensin system blockade is associated with the long-term protection against cardiac remodeling after cardioversion in hypertensive patients with atrial fibrillation. *Tohoku J Exp Med* 2010;221:251-255.
- El-Menyar AA. Cytokines and myocardial dysfunction: state of the art. *J Card Fail* 2008;14:61-74.
- Endres M, Laufs U, Huang Z, Nakamura T, Huang P, Moskowitz MA, et al. Stroke protection by 3-hydroxy-3-methylglutaryl (HMG)-CoA reductase inhibitors mediated by endothelial nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:8880-8885.
- Epifanio HB, Zornoff LA, Matsubara BB, de Paiva SA, Inoue RM, Matsubara LS. [Myocardial remodeling after experimental acute myocardial infarction in rats. Effect of renin-angiotensin-aldosterone blockade]. *Arq Bras Cardiol* 2005;84:10-14.
- Farahmand P, Lai TY, Weisel RD, Fazel S, Yau T, Menasche P, et al. Skeletal myoblasts preserve remote matrix architecture and global function when implanted early or late after coronary ligation into infarcted or remote myocardium. *Circulation* 2008;118:S130-137.
- Fishbein MC, Maclean D, Maroko PR. Experimental myocardial infarction in the rat: qualitative and quantitative changes during pathologic evolution. *Am J Pathol* 1978;90:57-70.
- Furuya DT, Poletto AC, Favaro RR, Martins JO, Zorn TM, Machado UF. Anti-inflammatory effect of atorvastatin ameliorates insulin resistance in monosodium glutamate-treated obese mice. *Metabolism* 2009;59:395-399.

- Gelpi RJ, Gao S, Zhai P, Yan L, Hong C, Danridge LM, et al. Genetic inhibition of calcineurin induces diastolic dysfunction in mice with chronic pressure overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;297:H1814-1819.
- Goldman S, Raya TE. Rat infarct model of myocardial infarction and heart failure. *J Card Fail* 1995;1:169-177.
- Gonzalez Flecha B, Llesuy S, Boveris A. Hydroperoxide-initiated chemiluminescence: an assay for oxidative stress in biopsies of heart, liver, and muscle. *Free Radic Biol Med* 1991;10:93-100.
- Group. TL-TIwPiIDLS. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group. *N Engl J Med* 1998;339:1349-1357.
- Grundey SM, Cleeman JI, Merz CN, Brewer HB, Jr., Clark LT, Hunninghake DB, et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:e149-161.
- Gullestad L, Aukrust P, Ueland T, Espevik T, Yee G, Vagelos R, et al. Effect of high- versus low-dose angiotensin converting enzyme inhibition on cytokine levels in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:2061-2067.
- Hill MF, Singal PK. Antioxidant and oxidative stress changes during heart failure subsequent to myocardial infarction in rats. *Am J Pathol* 1996;148:291-300.
- Horie T, Ono K, Nagao K, Nishi H, Kinoshita M, Kawamura T, et al. Oxidative stress induces GLUT4 translocation by activation of PI3-K/Akt and dual AMPK kinase in cardiac myocytes. *J Cell Physiol* 2008;215:733-742.

- Igel M, Sudhop T, von Bergmann K. Pharmacology of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors (statins), including rosuvastatin and pitavastatin. *J Clin Pharmacol* 2002;42:835-845.
- Iwasaka T, Sugiura T, Nakamura S, Okubo N, Inada M. Left ventricular function in myocardial infarction. Predictive value during negative low-level exercise three weeks postinfarction. *Chest* 1992;102:335-340.
- Jiang L, Huang Y, Hunyor S, dos Remedios CG. Cardiomyocyte apoptosis is associated with increased wall stress in chronic failing left ventricle. *Eur Heart J* 2003;24:742-751.
- Jones PH, Farmer JA. Adjunctive interventions in myocardial infarction: the role of statin therapy. *Curr Atheroscler Rep* 2008;10:142-148.
- Kaneta S, Satoh K, Kano S, Kanda M, Ichihara K. All hydrophobic HMG-CoA reductase inhibitors induce apoptotic death in rat pulmonary vein endothelial cells. *Atherosclerosis* 2003;170:237-243.
- Karpinski L, Plaksej R, Kosmala W, Witkowska M. Serum levels of interleukin-6, interleukin-10 and C-reactive protein in relation to left ventricular function in patients with myocardial infarction treated with primary angioplasty. *Kardiol Pol* 2008;66:1279-1285.
- Kaur K, Sharma A, Dhingra S, Singal P. Interplay of TNF-alpha and IL-10 in regulating oxidative stress in isolated adult cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 2006;41:1023-1030.
- Kaur K, Sharma A, Singal P. Significance of changes in TNF-alpha and IL-10 levels in the progression of heart failure subsequent to myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006 July;291(1):H106-H113. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;291:H106-H113.



- Keith M, Geranmayegan A, Sole MJ, Kurian R, Robinson A, Omran AS, et al. Increased oxidative stress in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:1352-1356.
- Kelly D, Cockerill G, Ng LL, Thompson M, Khan S, Samani NJ, et al. Plasma matrix metalloproteinase-9 and left ventricular remodelling after acute myocardial infarction in man: a prospective cohort study. *Eur Heart J* 2007;28:711-718.
- Kraegen EW, Sowden JA, Halstead MB, Clark PW, Rodnick KJ, Chisholm DJ, et al. Glucose transporters and in vivo glucose uptake in skeletal and cardiac muscle: fasting, insulin stimulation and immunolocalization studies of GLUT1 and GLUT4. *Biochem J* 1993;295 ( Pt 1):287-293.
- Kumai T, Oonuma S, Matsumoto N, Takeba Y, Taniguchi R, Kamio K, et al. Anti-lipid deposition effect of HMG-CoA reductase inhibitor, pitavastatin, in a rat model of hypertension and hypercholesterolemia. *Life Sci* 2004;74:2129-2142.
- Lehnen AM, Leguisamo NM, Pinto GH, Markoski MM, De Angelis K, Machado UF, et al. The beneficial effects of exercise in rodents are preserved after detraining: a phenomenon unrelated to GLUT4 expression. *Cardiovasc Diabetol* 2010;9:67.
- Lindpaintner K, Ganten D. The cardiac renin-angiotensin system. An appraisal of present experimental and clinical evidence. *Circ Res* 1991;68:905-921.
- Litwin SE, Katz SE, Weinberg EO, Lorell BH, Aurigemma GP, Douglas PS. Serial echocardiographic-Doppler assessment of left ventricular geometry and function in rats with pressure-overload hypertrophy. Chronic angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates the transition to heart failure. *Circulation* 1995;91:2642-2654.
- Lopaschuk GD, Saddik M. The relative contribution of glucose and fatty acids to ATP production in hearts reperfused following ischemia. *Mol Cell Biochem* 1992;116:111-116.

- Lopaschuk GD, Stanley WC. Glucose metabolism in the ischemic heart. *Circulation* 1997;95:313-315.
- Lopes RD, Batista ML, Jr., Rosa JC, Lira FS, Martins E, Jr., Shimura AY, et al. Changes in the production of IL-10 and TNF-alpha in skeletal muscle of rats with heart failure secondary to acute myocardial infarction. *Arq Bras Cardiol* 2010;94:293-300, 313-220.
- Ludman A, Venugopal V, Yellon DM, Hausenloy DJ. Statins and cardioprotection--more than just lipid lowering? *Pharmacol Ther* 2009;122:30-43.
- Machado U. Transportadores de glicose. *Arq Brás Endocrinol Metab* 1998;42:
- Machado UF, Schaan BD, Seraphim PM. [Glucose transporters in the metabolic syndrome]. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2006;50:177-189.
- Malfitano C, Alba Loureiro TC, Rodrigues B, Sirvente R, Salemi VM, Rabechi NB, et al. Hyperglycaemia protects the heart after myocardial infarction: aspects of programmed cell survival and cell death. *Eur J Heart Fail* 12:659-667.
- Mancia G, Parati G, Revera M, Bilo G, Giuliano A, Veglia F, et al. Statins, antihypertensive treatment, and blood pressure control in clinic and over 24 hours: evidence from PHYLLIS randomised double blind trial. *Bmj* 2010;340:c1197.
- Martos R, Baugh J, Ledwidge M, O'Loughlin C, Conlon C, Patle A, et al. Diastolic heart failure: evidence of increased myocardial collagen turnover linked to diastolic dysfunction. *Circulation* 2007;115:888-895.
- Matsuki A, Igawa A, Nozawa T, Nakadate T, Igarashi N, Nonomura M, et al. Early administration of fluvastatin, but not at the onset of ischemia or reperfusion, attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury through the nitric oxide pathway rather than its antioxidant property. *Circ J* 2006;70:1643-1649.

- Mill JG, Milanez Mda C, Busatto VC, de Moraes AC, Gomes Mda G. [Activation of the cardiac angiotensin-converting enzyme after myocardial infarction and its role in ventricular remodeling]. *Arq Bras Cardiol* 1997;69:101-110.
- Murray AJ, Lygate CA, Cole MA, Carr CA, Radda GK, Neubauer S, et al. Insulin resistance, abnormal energy metabolism and increased ischemic damage in the chronically infarcted rat heart. *Cardiovasc Res* 2006;71:149-157.
- Nakamura H. Primary prevention of cardiovascular diseases among hypercholesterolemic Japanese with a low dose of pravastatin. *Atheroscler Suppl* 2007;8:13-17.
- Neubauer S, Horn M, Naumann A, Tian R, Hu K, Laser M, et al. Impairment of energy metabolism in intact residual myocardium of rat hearts with chronic myocardial infarction. *J Clin Invest* 1995;95:1092-1100.
- Node K, Fujita M, Kitakaze M, Hori M, Liao JK. Short-term statin therapy improves cardiac function and symptoms in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation* 2003;108:839-843.
- Oigman W, Neves M. Sistema renina-angiotensina e hipertrofia ventricular esquerda. *Rev Bras Hipertens* 2000;3:261-267.
- Oliveira UO, Belló-Klein A, Oliveira AR, Kuchaski LC, Machado UF, Irigoyen MC, et al. Insulin alone or with captopril: effects on signaling pathways (AKT and AMPK) and oxidative balance after ischemia-reperfusion in isolated hearts. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, in press 2011;
- Olsson AG, Schwartz GG, Szarek M, Luo D, Jamieson MJ. Effects of high-dose atorvastatin in patients  $\geq$  65 years of age with acute coronary syndrome (from the myocardial ischemia reduction with aggressive cholesterol lowering [MIRACL] study). *Am J Cardiol* 2007;99:632-635.

- Opie LH. Metabolic response during impending myocardial infarction. I. Relevance of studies of glucose and fatty acid metabolism in animals. *Circulation* 1972;45:483-490.
- Pedersen TR, Olsson AG, Faergeman O, Kjekshus J, Wedel H, Berg K, et al. Lipoprotein changes and reduction in the incidence of major coronary heart disease events in the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Circulation* 1998;97:1453-1460.
- Pfeffer M, Lamas G, Vaughan D, Parisi A, Braunwald E. Effect of captopril on progressive ventricular dilatation after anterior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1988;319:80-86.
- Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications. *Circulation* 1990;81:1161-1172.
- Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, et al. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res* 1979;44:503-512.
- Piegas L. III Diretriz sobre tratamento do infarto agudo do miocárdio. *Arq Bras Cardiol* 2004;83:
- Ploug T, van Deurs B, Ai H, Cushman SW, Ralston E. Analysis of GLUT4 distribution in whole skeletal muscle fibers: identification of distinct storage compartments that are recruited by insulin and muscle contractions. *J Cell Biol* 1998;142:1429-1446.
- Randhawa AK, Singal PK. Pressure overload-induced cardiac hypertrophy with and without dilation. *J Am Coll Cardiol* 1992;20:1569-1575.
- Rattazzi M, Puato M, Faggini E, Bertipaglia B, Zamboni A, Pauletto P. C-reactive protein and interleukin-6 in vascular disease: culprits or passive bystanders? *J Hypertens* 2003;21:1787-1803.
- Ray KK, Cannon CP, McCabe CH, Cairns R, Tonkin AM, Sacks FM, et al. Early and late benefits of high-dose atorvastatin in patients with acute coronary syndromes: results from the PROVE IT-TIMI 22 trial. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1405-1410.

- Remondino A, Rosenblatt-Velin N, Montessuit C, Tardy I, Papageorgiou I, Dorsaz PA, et al. Altered expression of proteins of metabolic regulation during remodeling of the left ventricle after myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol* 2000;32:2025-2034.
- Rett K, Wicklmayr M, Dietze GJ, Haring HU. Insulin-induced glucose transporter (GLUT1 and GLUT4) translocation in cardiac muscle tissue is mimicked by bradykinin. *Diabetes* 1996;45 Suppl 1:S66-69.
- Ridker PM, Rifai N, Pfeffer M, Sacks F, Lepage S, Braunwald E. Elevation of tumor necrosis factor-alpha and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation* 2000;101:2149-2153.
- Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000;101:1767-1772.
- Ritchie ME. Nuclear factor-kappaB is selectively and markedly activated in humans with unstable angina pectoris. *Circulation* 1998;98:1707-1713.
- Roivainen M, Viik-Kajander M, Palosuo T, Toivanen P, Leinonen M, Saikku P, et al. Infections, inflammation, and the risk of coronary heart disease. *Circulation* 2000;101:252-257.
- Rumberger JA, Behrenbeck T, Breen JR, Reed JE, Gersh BJ. Nonparallel changes in global left ventricular chamber volume and muscle mass during the first year after transmural myocardial infarction in humans. *J Am Coll Cardiol* 1993;21:673-682.
- Saad ED. Prevenção Primária e Secundária da Aterosclerose: perspectivas atuais e futuras. *Revista da SOCERJ* 2004;
- Saraste A, Pulkki K, Kallajoki M, Henriksen K, Parvinen M, Voipio-Pulkki LM. Apoptosis in human acute myocardial infarction. *Circulation* 1997;95:320-323.

- Schafer A, Fraccarollo D, Eigenthaler M, Tas P, Firnschild A, Frantz S, et al. Rosuvastatin reduces platelet activation in heart failure: role of NO bioavailability. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1071-1077.
- Schneider C, Oliveira A. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. *Rev Bras Med Esporte* 2004;10:
- Schottelius AJ, Mayo MW, Sartor RB, Baldwin AS, Jr. Interleukin-10 signaling blocks inhibitor of kappaB kinase activity and nuclear factor kappaB DNA binding. *J Biol Chem* 1999;274:31868-31874.
- Schwartz GG, Olsson AG, Ezekowitz MD, Ganz P, Oliver MF, Waters D, et al. Effects of atorvastatin on early recurrent ischemic events in acute coronary syndromes: the MIRACL study: a randomized controlled trial. *Jama* 2001;285:1711-1718.
- Sharma KK, Gupta R, Agrawal A, Roy S, Kasliwal A, Bana A, et al. Low use of statins and other coronary secondary prevention therapies in primary and secondary care in India. *Vasc Health Risk Manag* 2009;5:1007-1014.
- Shiuchi T, Cui TX, Wu L, Nakagami H, Takeda-Matsubara Y, Iwai M, et al. ACE inhibitor improves insulin resistance in diabetic mouse via bradykinin and NO. *Hypertension* 2002;40:329-334.
- Silva FL, Mazzotti NG, Picoral M, Nascimento DM, Martins MIM, Klein AB. Infarto do miocárdio experimental e aumento do estresse oxidativo em diafragma de ratos. *J Bras Pneumol* 2005;35:506-510.
- Singal PK, Khaper N, Farahmand F, Bello-Klein A. Oxidative stress in congestive heart failure. *Curr Cardiol Rep* 2000;2:206-211.
- Singal PK, Khaper N, Palace V, Kumar D. The role of oxidative stress in the genesis of heart disease. *Cardiovasc Res* 1998;40:426-432.

- Smith RS, Jr., Agata J, Xia CF, Chao L, Chao J. Human endothelial nitric oxide synthase gene delivery protects against cardiac remodeling and reduces oxidative stress after myocardial infarction. *Life Sci* 2005;76:2457-2471.
- Sola S, Mir MQ, Lerakis S, Tandon N, Khan BV. Atorvastatin improves left ventricular systolic function and serum markers of inflammation in nonischemic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:332-337.
- St John Sutton M, Lee D, Rouleau JL, Goldman S, Plappert T, Braunwald E, et al. Left ventricular remodeling and ventricular arrhythmias after myocardial infarction. *Circulation* 2003;107:2577-2582.
- Stein B, Eschenhagen T, Rudiger J, Scholz H, Forstermann U, Gath I. Increased expression of constitutive nitric oxide synthase III, but not inducible nitric oxide synthase II, in human heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:1179-1186.
- Strazzullo P, Kerry SM, Barbato A, Versiero M, D'Elia L, Cappuccio FP. Do statins reduce blood pressure?: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Hypertension* 2007;49:792-798.
- Stumpf C, Petzi S, Seybold K, Wasmeier G, Arnold M, Raaz D, et al. Atorvastatin enhances interleukin-10 levels and improves cardiac function in rats after acute myocardial infarction. *Clin Sci (Lond)* 2009;116:45-52.
- Takaguri A, Satoh K, Itagaki M, Tokumitsu Y, Ichihara K. Effects of atorvastatin and pravastatin on signal transduction related to glucose uptake in 3T3L1 adipocytes. *J Pharmacol Sci* 2008;107:80-89.
- Tavares AM, da Rosa Araujo AS, Baldo G, Matte U, Khaper N, Bello-Klein A, et al. Bone marrow derived cells decrease inflammation but not oxidative stress in an experimental model of acute myocardial infarction. *Life Sci* 2010;87:699-706.

- The SOLVD I. Effect of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions *N Engl J Med* 1992;327:685-691.
- Thygesen K, Alpert JS, White HD. Universal definition of myocardial infarction - *Eur Heart J*. *Eur Heart J* 2007;28:2525-2538.
- Tian R, Abel ED. Responses of GLUT4-deficient hearts to ischemia underscore the importance of glycolysis. *Circulation* 2001;103:2961-2966.
- Torre-Amione G, Kapadia S, Benedict C, Oral H, Young JB, Mann DL. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *J Am Coll Cardiol* 1996;27:1201-1206.
- Tran D, Lowy A, Howes JB, Howes LG. Effects of cerivastatin on forearm vascular responses, blood pressure responsiveness and ambulatory blood pressure in type 2 diabetic men. *Diabetes Obes Metab* 2005;7:273-281.
- Uldry M, Thorens B. The SLC2 family of facilitated hexose and polyol transporters. *Pflugers Arch* 2004;447:480-489.
- Van de Werf F, Ardissino D, Betriu A, Cokkinos DV, Falk E, Fox KA, et al. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. The Task Force on the Management of Acute Myocardial Infarction of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2003;24:28-66.
- Vaughan CJ, Gotto AM, Jr. Update on statins: 2003. *Circulation* 2004;110:886-892.
- Weber CR, Piacentino V, 3rd, Houser SR, Bers DM. Dynamic regulation of sodium/calcium exchange function in human heart failure. *Circulation* 2003;108:2224-2229.



- White HD, Norris RM, Brown MA, Brandt PW, Whitlock RM, Wild CJ. Left ventricular end-systolic volume as the major determinant of survival after recovery from myocardial infarction. *Circulation* 1987;76:44-51.
- Wolfrum S, Grimm M, Heidbreder M, Dendorfer A, Katus HA, Liao JK, et al. Acute reduction of myocardial infarct size by a hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase inhibitor is mediated by endothelial nitric oxide synthase. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003;41:474-480.
- Wolfrum S, Jensen KS, Liao JK. Endothelium-dependent effects of statins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:729-736.
- WOSCOPS. Influence of pravastatin and plasma lipids on clinical events in the West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS). *Circulation* 1998;97:1440-1445.
- Xu Q, Dalic A, Fang L, Kiriazis H, Ritchie RH, Sim K, et al. Myocardial oxidative stress contributes to transgenic beta-adrenoceptor activation-induced cardiomyopathy and heart failure. *Br J Pharmacol* 2011;162:1012-1028.
- Yan AT, Yan RT, Spinale FG, Afzal R, Gunasinghe HR, Arnold M, et al. Plasma matrix metalloproteinase-9 level is correlated with left ventricular volumes and ejection fraction in patients with heart failure. *J Card Fail* 2006;12:514-519.
- Zhang L, Zhang S, Jiang H, Sun A, Wang Y, Zou Y, et al. Effects of statin therapy on inflammatory markers in chronic heart failure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Med Res* 2010;41:464-471.
- Zornoff LA, Paiva SA, Duarte DR, Spadaro J. Ventricular remodeling after myocardial infarction: concepts and clinical implications. *Arq Bras Cardiol* 2009;92:150-164.
- Zornoff LA, Skali H, Pfeffer MA, St John Sutton M, Rouleau JL, Lamas GA, et al. Right ventricular dysfunction and risk of heart failure and mortality after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:1450-1455.

Zorzano A, Sevilla L, Camps M, Becker C, Meyer J, Kammermeier H, et al. Regulation of glucose transport, and glucose transporters expression and trafficking in the heart: studies in cardiac myocytes. *Am J Cardiol* 1997;80:65A-76A.

**ARTIGO**

EFEITO DA ATORVASTATINA SOBRE O CORAÇÃO EM RATOS SUBMETIDOS A  
INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO

Tatiana Ederich Lehnen<sup>1,2</sup>, Alexandre Machado Lehnen<sup>1,2</sup>, Melissa Medeiros Markoski<sup>2</sup>,  
Angela Maria Vicente Tavares<sup>3</sup>, Beatriz D'Agord Schaan<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas - Endocrinologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brasil

<sup>2</sup> Instituto de Cardiologia do RS/Fundação Universitária de Cardiologia do Rio Grande do Sul (RS), Brasil

<sup>3</sup> Programa de Pós Graduação em Fisiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

**Endereço para correspondência:**

Dra. Beatriz D'Agord Schaan  
Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre  
Rua Ramiro Barcelos, 2350. CEP 90035-003 – Porto Alegre, RS, Brasil  
Fone: 55 51 33310207  
E-mail: beatrizschaan@gmail.com

## Resumo

**Introdução:** Embora estatinas sejam benéficas após o infarto agudo do miocárdio (IAM), pouco se sabe sobre seus efeitos quando usadas previamente ao evento. **Objetivo:** Avaliar o efeito do uso prévio de atorvastatina sobre a função cardiovascular, inflamação e GLUT4 no coração de ratos após IAM (oclusão artéria coronária). **Métodos:** Ratos Wistar-Kyoto, machos, foram tratados com atorvastatina (20mg/kg) ou veículo (gavagem), 14 dias antes do IAM ou cirurgia sham e avaliação ecocardiográfica 48h pós-IAM (Protocolo A) ou + 7 dias de atorvastatina após IAM e avaliação ecocardiográfica 7 dias pós-IAM (Protocolo B), divididos 16/grupo: C (sham+veículo), I (IAM+veículo), CA<sub>t</sub> (sham+atorvastatina) e IA<sub>t</sub> (IAM+atorvastatina). Foram avaliados parâmetros funcionais ecocardiográficos, marcadores inflamatórios plasmáticos e GLUT4 no coração (*Western blot*). **Resultados:** A área de infarto foi ~50% nos grupos I e IA<sub>t</sub>. No protocolo A, a fração de encurtamento foi ~60% maior no grupo IA<sub>t</sub> vs. I (C:50,9±3,9; CA<sub>t</sub>:47,9±4,0; I:20,7±3,4; IA<sub>t</sub>:33,4±3,5 %; p=0,036), o que não ocorreu no protocolo B. A fração de ejeção apresentou redução nos animais após IAM (Protocolo A: ~37%; B: ~30%) e a atorvastatina não melhorou este índice. Houve aumento de GLUT4 (miocárdio, membrana plasmática) pelo IAM 48h pós-IAM: C:35,7±6,0; CA<sub>t</sub>:32,2±10,9; I:49,8±9,8; IA<sub>t</sub>:54,1±6,3 UA/g tecido; p<0,001, sem benefício pela atorvastatina, e redução 7 dias pós-IAM: C:50,2±4,4; CA<sub>t</sub>:52,3±3,1; I:39,0±7,9; IA<sub>t</sub>:26,4±11,0 UA/g tecido; p<0,001, com prejuízo pela atorvastatina (redução de 32% na membrana plasmática). O IAM determinou aumento de marcadores inflamatórios no plasma, não revertido pelo uso de atorvastatina. **Conclusão:** Atorvastatina prévia ao IAM melhora a contratilidade no miocárdio precocemente independente do GLUT4 cardíaco, efeito que não foi mantido quando da avaliação mais tardia.

**Palavras-chaves:** atorvastatina, GLUT4, infarto agudo do miocárdio.

## Abstract

**Background:** Although statins are beneficial after acute myocardial infarction (AMI), its effects when used prior to this event remains unclear. **Aim:** To evaluate the effect of prior use of atorvastatin on cardiovascular function, inflammatory state and GLUT4 expression in the rat heart after myocardial infarction (coronary artery occlusion). **Methods:** Wistar-Kyoto male rats were treated with atorvastatin (20mg/kg) or vehicle (gavage), 14 days before the AMI or sham surgery, and echocardiographic evaluation 48 hours after AMI (protocol A) or atorvastatin + 7 days after AMI and echocardiography 7 days after AMI (Protocol B), allocated 16/grupo: C (sham + vehicle), I (AMI + vehicle), CA<sub>t</sub> (sham + atorvastatin) and IA<sub>t</sub> (AMI + atorvastatin). Functional echocardiographic parameters, plasma inflammatory markers and GLUT4 in the heart (Western blot) were measured. **Results:** Infarcted area was ~50% in groups I and IA<sub>t</sub>. In protocol A, left ventricular fractional shortening was ~60% higher in the IA<sub>t</sub> vs. I (C:  $50.9 \pm 3.9$ ; CA<sub>t</sub>:  $47.9 \pm 4.0$ ; I:  $20.7 \pm 3.4$ ; IA<sub>t</sub>:  $33.4 \pm 3.5$ %,  $p=0.036$ ), which not occur in protocol B. Ejection fraction was reduced in the animals after acute myocardial infarction (Protocol A: ~37%, B: ~30%) and atorvastatin did not improve this parameter. There was an increase of GLUT4 (plasma membrane) in the Protocol A (C:  $35.7 \pm 6.0$ ; CA<sub>t</sub>:  $32.2 \pm 10.9$ , I:  $49.8 \pm 9.8$ ; IA<sub>t</sub>:  $54.1 \pm 6.3$  AU/g tissue,  $p<0.001$ ) with no benefit by atorvastatin, and reduction in the Protocolo B (C:  $50.2 \pm 4.4$ ; CA<sub>t</sub>:  $52.3 \pm 3.1$ ; I:  $39, 0 \pm 7.9$ ; IA<sub>t</sub>:  $26.4 \pm 11.0$  AU/g tissue,  $p<0.001$ ), damage by atorvastatin (32% reduction in the plasma membrane). The AMI resulted in an increase of inflammatory markers in plasma, not reversed by the use of atorvastatin. **Conclusion:** Atorvastatin prior to AMI improves myocardial contractility in early heart independent of GLUT4, an effect that was not maintained when evaluating later.

**Key-words:** Atorvastatin, GLUT4, acute myocardial infarction.

## Introdução

O infarto agudo do miocárdio (IAM) é a principal consequência da doença arterial coronariana, com alto índice de morbidade e mortalidade, podendo levar à insuficiência cardíaca (Thygesen *et al*, 2007). A perda de tecido muscular cardíaco é uma consequência de respostas compensatórias, especialmente no ventrículo esquerdo, para preservação do débito cardíaco (Iwasaka *et al*, 1992). O músculo cardíaco é caracterizado por elevada taxa de consumo de glicose (Lopaschuk *et al*, 1997), cuja captação pelos cardiomiócitos é realizada primariamente por difusão facilitada através da ação do transportador de glicose tipo 4 (GLUT4). Assim, a expressão de GLUT4 no tecido cardíaco é determinante no suprimento de glicose, tendo efeitos sobre a contratilidade miocárdica (Zhang *et al*, 2009).

Após o IAM estabelece-se o remodelamento ventricular, o qual é influenciado pelo aumento de expressão de citocinas pró-inflamatórias, tais como fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (Chen *et al*, 2011) e interleucina-6 (IL-6) (Rattazzi *et al*, 2003), as quais têm sido investigadas como marcadores inflamatórios no remodelamento cardíaco (El-Menyar, 2008; Lopes *et al*, 2010). Já a interleucina 10 (IL-10), citocina com propriedades anti-inflamatórias, se mostrou negativamente associada à progressão da insuficiência cardíaca após o IAM (Kaur *et al*, 2006a; Kaur *et al*, 2006b). Quando IL-6 e TNF- $\alpha$  são ativadas, existe uma diminuição de translocação de GLUT4 para a membrana plasmática e por consequência, menor captação de glicose por células insulino-sensíveis (Hirosumi *et al*, 2002; Stephens *et al*, 1991).

As estatinas são fármacos reconhecidamente úteis na redução de mortalidade após o IAM em humanos, o que se deve a seus efeitos hipolipemiantes e anti-inflamatórios (Huang *et al*, 2009; Zhang *et al*, 2011). Estudos utilizando atorvastatina mostraram sua capacidade em reduzir citocinas inflamatórias (IL-6 e TNF- $\alpha$ ) no coração de ratos após IAM e aumentar a expressão do GLUT4 no tecido adiposo de camundongos (Furuya *et al*, 2009; Stumpf *et al*, 2009). Entretanto, o papel da atorvastatina sobre o GLUT4 no coração de ratos após IAM

ainda não foi estudado. Para estudar as conseqüências e complicações do IAM tem se utilizado modelo de ligadura da artéria coronária esquerda em ratos, pois os resultados deste procedimento apresentam muitas similaridades ao que ocorre após IAM em humanos. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do uso profilático de atorvastatina sobre a resposta inflamatória e expressão do GLUT4 em diferentes tempos precoces após infarto agudo do miocárdio em ratos.



## **Materiais e Métodos**

### *Animais*

Todos os procedimentos adotados durante os experimentos envolvendo os animais estão de acordo com o que preconiza o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e sob os padrões internacionais de pesquisa com animais *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. A aprovação da pesquisa foi concedida previamente pelo Comitê de Ética do Instituto de Cardiologia do RS em 18/11/2009 sob protocolo UP:4387/09.

Foram utilizados 64 ratos Wistar-Kyoto (WKY), machos, com 60 dias (Protocolo A, n=25; Protocolo B, n=39). Os animais foram criados e mantidos sob condições de biotério convencional, na Coordenação de Produção e Experimentação Animal do Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde do Rio Grande do Sul. Os animais foram alimentados com ração balanceada padrão para roedores, receberam água *ad libitum* e foram mantidos em gaiolas específicas para ratos com fotoperíodo claro/escuro de 12 horas (06:00/18:00h).

Os ratos foram divididos em 4 grupos: cirurgia sham e veículo oral – água de beber (C, n=14), cirurgia de ligadura da coronária esquerda e veículo oral – água de beber (I, n=18), cirurgia sham e atorvastatina oral (CA<sub>t</sub>, n=14) e cirurgia de ligadura da coronária esquerda e atorvastatina oral (IA<sub>t</sub>, n=18). Os detalhes da sequência experimental estão descritos a seguir e mostrados esquematicamente na Figura 1.

No protocolo A, os animais foram submetidos ao tratamento com atorvastatina (20mg/kg peso) ou veículo por gavagem durante 14 dias e após foi feito o procedimento de ligadura da artéria coronária esquerda ou cirurgia sham. Ao final desses 14 dias de tratamento, 48h após, os animais foram avaliados novamente por ecocardiografia e 24h após foram anestesiados (50 ml.kg<sup>-1</sup> ketamina e 20 ml.kg<sup>-1</sup> xilasina, volume de 0.2 ml/100g), quando foi coletado sangue da artéria aorta para análises de IL-6 e TNF- $\alpha$ . Posteriormente, os corações

foram retirados, caracterizando a eutanásia, pesados e após colocados em nitrogênio líquido para posterior armazenamento em freezer (Figura 1A).

No protocolo B, após sua alocação aos grupos descritos, os animais foram avaliados por ecocardiografia e submetidos ao tratamento com atorvastatina na mesma dose acima descrita ou veículo por gavagem durante 14 dias. Subsequente a isto, foi realizada a cirurgia para ligadura da artéria coronária esquerda ou cirurgia sham e realizado novamente o tratamento com atorvastatina por mais 7 dias. Ao final dos 21 dias de tratamento (uma semana pós-IAM), os animais foram avaliados novamente através de ecocardiografia, para caracterizar o tamanho do IAM e avaliar parâmetros funcionais. Após 24 horas, os animais foram anestesiados ( $50 \text{ ml.kg}^{-1}$  ketamina e  $20 \text{ ml.kg}^{-1}$  xilasina, volume de  $0.2 \text{ ml}/100\text{g}$ ) e os corações rapidamente retirados, pesados e congelados em nitrogênio líquido. Os corações foram então armazenados a  $-80^\circ\text{C}$  para as análises moleculares. Com a retirada do coração, os animais foram conseqüentemente eutanasiados (Figura 1B).

#### *Indução do IAM*

O IAM foi induzido por ligadura da artéria coronária esquerda, de acordo com descrito na literatura (Pfeffer *et al*, 1979). Os animais foram anestesiados intraperitonealmente com ketamina ( $50 \text{ ml.kg}^{-1}$ ) e xilasina ( $20 \text{ ml.kg}^{-1}$ ). Após a intubação orotraqueal, os animais foram colocados à ventilação mecânica (ventilador Harvard, modelo 683, frequência:  $60 \text{ m}/\text{min}$ , volume corrente:  $1,5 \text{ ml}$ ). Foi realizada uma toracotomia intercostal esquerda, o pericárdio rompido e após ocluído a artéria coronária esquerda com um fio mononylon 6.0. Após a ligadura da coronária, a incisão torácica foi fechada utilizando-se fio mononylon 5.0, os músculos foram reposicionados e a pele suturada. Todos os animais receberam analgesia após o procedimento cirúrgico (Butorfanol  $2 \text{ mg.kg}^{-1}$ ).

#### *Ecocardiografia*

Para este procedimento, os animais foram colocados em decúbito lateral (ângulo de 45°) para obter as imagens cardíacas (ecocardiógrafo Philips – EnVisor Andover, MA, EUA.), utilizando-se transdutor de 12-4 MHz e profundidade de 2 centímetros (Cheitlin *et al*, 2003). As imagens foram captadas por um operador treinado com experiência em ecocardiografia em pequenos animais, analisando fração de encurtamento do ventrículo esquerdo (FEVE), diâmetro sistólico (DS) e diâmetro diastólico (DD), onda “E”, onda “A” e razão E/A (Lahoutte, 2007; Liu *et al*, 2009).

#### *Preparação dos tecidos*

A homogeneização do tecido cardíaco foi realizada conforme descrito na literatura (Machado *et al*, 1994). Brevemente, o coração foi fragmentado e processado em tampão (7,4 pH, 10 mmol/l Tris-HCl, 1 mmol/l EDTA e 250 mmol/l sacarose) na proporção 1:4 (peso:volume), utilizando-se um homogeneizador mecânico de tecido (Marconi, Piracicaba, Brasil), através de 4 a 5 pulsos de 30 s à 20.000 rpm. O material obtido foi centrifugado a 1.000 g por 10 min. O sobrenadante foi separado, o sedimento ressuspensionado com 1/3 do volume inicial e centrifugado novamente a 1.000 g por 10 mins. O sobrenadante obtido neste passo foi misturado ao primeiro e levado à centrifugação durante 60 min a 16.000 g. O sedimento foi ressuspensionado em 500 ul de tampão para obtenção da fração das proteínas da membrana (PM). O sobrenadante foi centrifugado a 150.000 g por 75 min, onde o sedimento obtido foi ressuspensionado em 250 ul de tampão e corresponde a fração das vesículas microssomais (M). Para determinação da concentração das proteínas foi utilizado o método modificado de Bradford (Bradford, 1976), através do uso de reagente de coomassie blue (Bio Rad, Philadelphia, EUA), com quantificação por densidade óptica por curva padrão de albumina bovina sérica em espectrofotômetro (Spectramax M2, Molecular Devices, Sunnyvale, EUA) a 595 nm.

### *Western blot*

A expressão de GLUT4, tanto da proteína translocada para a membrana como estocada em vesículas, foi avaliada pelo método de Western blot. As amostras (150 ug) foram submetidas à separação eletroforética em gel de poliacrilamida/dodecil sulfato de sódio (SDS, Invitrogen, Carlsbad, EUA) a 10%, juntamente com um marcador de peso molecular (BenchMark, Invitrogen, Burlington, EUA). Para a migração eletroforética, as amostras foram desnaturadas em tampão de amostra NuPage (Invitrogen, Carlsbad, EUA) durante 5 min a 100 °C e separadas em tampão contendo 0,25 M de Tris-base (Invitrogen, Carlsbad, EUA), 1,92 M de Glicina (Merck, Darmstadt, Alemanha) e 1% de SDS (Invitrogen, Carlsbad, EUA). As proteínas foram então transferidas para uma membrana de nitrocelulose Hybond ECL (Ge Healthcare, New York, EUA) em sistema semi-seco (Ge Healthcare, New York, EUA). O bloqueio da membrana foi feito durante 1 h em caseína a 5%. A membrana foi incubada com 1/250 de anticorpo anti-Glut4 (#CBL243, Millipore, Billerica, EUA), durante 16 h a 4° C, seguido de uma incubação adicional de 3 h a 37° C. Após, a membrana foi lavada (PBS/Tween 20 a 0,05%, 1 x 15 min, 3 x 5 min) e incubada durante 1 h com anticorpo anti-IgG conjugado com peroxidase (#AP307P, Millipore, Billerica, EUA). A membrana foi novamente lavada em PBS/Tween 20 (1 x 15 min, 4 x 5 min), incubada no escuro com substrato para peroxidase (kit ECL, GE Healthcare, New York, EUA) por 3 min e exposta a filme radiográfico ultra-sensível (Kodak, Frankfurt, Alemanha) durante 1h. A intensidade das bandas foi quantificada por densitometria óptica, através do software de domínio público *Scion Image* e os resultados obtidos foram expressos como unidades arbitrárias (AU/ $\mu$ g proteína).

### *ELISA*

A análise da expressão dos marcadores inflamatórios IL-6 e TNF- $\alpha$  foi feita através de ensaio imunoenzimático (ELISA). Os plasmas foram descongelados 1 h antes do uso e para as

dosagens foram utilizados kits comerciais Platinum ELISA (Ebiosciences, San Diego, CA, USA) específicos para detecção das moléculas em ratos. As quantificações foram obtidas através de regressão linear de 4 parâmetros (Excel).

#### *Análise estatística*

Os resultados foram expressos em médias e desvios-padrão. As diferenças foram analisadas por teste t de Student e análise de variância (ANOVA) fatorial de 2 vias, seguida pelo post-hoc de Bonferroni, conforme apropriado. O nível de significância utilizado para todos os testes foi de 5%.

## Resultados

No Protocolo A, 25 animais foram submetidos à cirurgia de ligadura da artéria coronária, dos quais 5 morreram em decorrência de complicações relacionadas ao procedimento (taxa de mortalidade durante e imediatamente após o procedimento: 20%). Dos 20 animais restantes, 10 ratos tiveram IAM confirmado pela ecocardiografia, compondo os grupos I e IAt. Os 10 animais que não tiveram IAM confirmados foram alocados para os grupos sham (C e CAAt). Igualmente, no Protocolo B, 39 animais foram submetidos à cirurgia de ligadura da artéria coronária, dos quais 6 morreram em decorrência de complicações relacionadas ao procedimento (taxa de mortalidade durante e imediatamente após o procedimento: 15%). Dos 33 animais restantes, 19 tiveram IAM confirmado pela ecocardiografia, compondo os grupos I e IAt. Os 14 animais que não tiveram IAM confirmados foram alocados para os grupos sham (C e CAAt).

O peso corporal se manteve estável em todos os grupos (Figura 2, painel A: Protocolo A, painel B: Protocolo B) durante ambos os experimentos.

A área de infarto está representada na Figura 3. A área de infarto do protocolo A foi de ~51% no grupo I e ~48% no grupo IAt. Por sua vez, no protocolo B, a área de infarto foi de ~44% no grupo I e ~39% no grupo IAt. Estes valores mostram que não houve diferença no procedimento de ligadura da coronária em ambos os protocolos, condição fundamental para análise dos parâmetros ecocardiográficos e bioquímicos apresentados a seguir. A tabela 1 mostra os resultados da avaliação cardiovascular dos animais estudados, em ambos os Protocolos, A e B. A frequência cardíaca após a anestesia, durante a ecocardiografia, não se mostrou alterada em nenhum dos grupos analisados de ambos os experimentos (dados não mostrados). No protocolo A, a FEVE do grupo IAt foi maior em relação ao grupo I (~60%;  $p=0,042$ ). Já no protocolo B, a ligadura da artéria coronária esquerda determinou redução da FEVE (grupo I em comparação aos grupos C e CAAt,  $p<0,001$  para ambas as comparações). O

uso de atorvastatina 7 dias após o IAM teve uma tendência a aumentar a FEVE (~25%, IAt vs. grupo I:  $p=0,058$ ).

A FE se mostrou menor após o IAM ( $p<0,001$ ) em ambos os protocolos, conforme esperado. Os animais submetidos à ligadura da coronária esquerda apresentaram diminuição de ~37% deste, quando comparados aos animais controle do protocolo A (I vs. C,  $p<0,001$ ) e de ~30% no animais do protocolo B. (I vs. C,  $p<0,001$ ). O uso de atorvastatina não modificou esta redução em ambos os protocolos (Tabela 1).

O IAM provocou aumento do diâmetro sistólico nos animais infartados nos dois protocolos, causando prejuízo na função sistólica destes animais (Protocolo A: I vs. C,  $p=0,019$  e Protocolo B: I vs. C,  $p<0,001$ ). No Protocolo A, o uso da atorvastatina prévia ao IAM, fez com que o diâmetro sistólico fosse menor em relação ao grupo I ( $p=0,033$ ) e semelhante ao grupo C. Por outro lado, a intervenção com atorvastatina 7 dias após IAM não melhorou este parâmetro, mostrando que o diâmetro sistólico do grupo IAt permaneceu similar ao grupo I e maior em relação aos animais que não sofreram o IAM, no Protocolo B (IAt vs. C e vs. CAt,  $p<0,001$  para ambas as comparações).

O grupo IAt do protocolo A mostrou tendência de melhora em relação ao diâmetro diastólico, embora sem significância estatística. Entretanto, no protocolo B, o IAM também provocou aumento do diâmetro diastólico (~6%;  $p=0,007$ ) em relação ao grupo C, porém em valores menos pronunciados. Não houve alterações neste parâmetro com o uso da atorvastatina (Tabela 1). Por outro lado, a velocidade de fluxo caracterizada pela onda “E” e pela onda “A”, apresentou melhora na velocidade da onda “E” no grupo IAt em comparação ao grupo C ( $p=0,035$ ), no Protocolo A. Já no Protocolo B, esta velocidade (onda “E”) apresentou-se reduzida em função do IAM ( $p=0,010$  e  $p=0,031$ , respectivamente (Tabela 1). A razão E/A, um índice de função diastólica, foi semelhante entre os grupos em ambos os Protocolos, A e B (Tabela 1).

A expressão sistêmica das citocinas pró-inflamatórias e a ativação e translocação do GLUT4 foram analisadas por ensaios moleculares. Figura 4 mostra as análises das concentrações séricas de IL-6 e TNF- $\alpha$  (Painel A e B, respectivamente) referentes ao Protocolo A. O IAM levou a um aumento da secreção de ambas as citocinas inflamatórias (IL6:  $p=0,015$ ; TNF- $\alpha$ :  $p=0,002$ ), quando comparados aos grupos C e CAAt. O uso de atorvastatina após IAM não atenuou este efeito, permanecendo em níveis semelhantes ao grupo I, embora se observe uma tendência de redução de ambas as citocinas pelo uso da droga.

O IAM no protocolo A provocou aumento na expressão do GLUT4, tanto na porção microsossomal ( $\sim 32\%$ ,  $p=0,003$ ) como na fração de membrana plasmática ( $34\%$ ,  $p<0,001$ ) (Figuras 5A e 5B, respectivamente), quando comparada a dos animais dos grupos controle. Houve uma tendência de aumento na expressão do GLUT4 dos animais que receberam atorvastatina em relação ao grupo I em ambas as frações analisadas, embora sem significância estatística.

Por outro lado, no protocolo B, o IAM provocou menor expressão do GLUT4 nos corações dos animais submetidos ao procedimento, comparados ao grupo controle, tanto na fração microsossomal ( $p=0,030$ ) como na fração de membrana plasmática ( $p<0,001$ ) (Figura 6A e 6B). Não houve aumento de GLUT4 na fração microsossomal no coração de ratos submetidos à ligadura da artéria coronária que receberam atorvastatina (IAAt), mantendo-se em níveis semelhantes ao grupo I. No entanto, o uso de atorvastatina causou diminuição da translocação de GLUT4 para a membrana plasmática ( $-32\%$ , grupo I vs. grupo IAAt,  $p=0,002$ , Figura 6B).



## Discussão

O presente estudo mostrou que o uso contínuo de atorvastatina por 14 dias antes do infarto agudo do miocárdio melhorou a função cardíaca (parâmetros sistólicos e diastólicos) quando esta foi avaliada precocemente (48 horas), efeito que não se manteve tardiamente (7 dias) após o insulto miocárdico. Porém, este efeito benéfico foi independente de mudanças no GLUT4 e dos marcadores inflamatórios plasmáticos avaliados (IL-6 e TNF- $\alpha$ ).

A área infartada foi similar em ambos os protocolos, conforme esperado, já que o procedimento de ligadura da artéria coronária foi realizado sempre pelo mesmo operador, treinado para tal. É importante salientar que o modelo de IAM utilizado é um procedimento cirúrgico onde a artéria coronariana é ocluída, diferentemente de uma obstrução por causas naturais dos vasos coronarianos, como geralmente ocorre em humanos, levando ao IAM. Esse fato é determinante para avaliação dos parâmetros funcionais em modelos de IAM por oclusão de artéria coronariana, onde é premissa básica que a área infartada entre os grupos seja semelhante, tendo em vista ser determinada pela ação de um mesmo operador treinado.

O uso da atorvastatina pelos períodos estudados não modificou o peso dos animais, conforme esperado. Estes resultados estão de acordo com o descrito na literatura, uma vez que a ação comumente relatada da atorvastatina é a redução de lipoproteínas, mas sem modificação do peso corporal (Ji *et al*, 2011).

Nós observamos uma perda da contratilidade miocárdica, com conseqüente prejuízo para função cardíaca dos animais infartados, avaliados 48 horas e 7 dias após o evento isquêmico, corroborando com outros estudos descritos na literatura (Pleger *et al*, 2005; Stumpf *et al*, 2009). Embora o uso de atorvastatina durante 14 dias antes do IAM (comum para ambos os grupos tratados) e sua continuidade por 7 dias pós-infarto tenha sido proposto com o objetivo de proteger o miocárdio, nenhum benefício deste tratamento foi evidenciado sobre os parâmetros ecocardiográficos avaliados. Por outro lado, houve efeito benéfico do uso

de atorvastatina por 14 dias quando estes mesmos parâmetros foram avaliados precocemente, o que pôde ser visto claramente no Protocolo A. Esses dados sugerem que a atorvastatina exerceu efeitos ditos pleiotrópicos sobre a função cardíaca, conforme hipotetizado previamente, mas esses efeitos foram fugazes, não mais sendo observados em avaliação realizada 7 dias após (Protocolo B), mesmo em vigência da manutenção do tratamento com a droga. Resultados semelhantes foram observados em modelos animais de insuficiência cardíaca por isoproterenol (Garjani *et al*, 2011) ou sobrecarga de volume (Cheng *et al*, 2007), onde o uso de atorvastatina após a indução da disfunção melhorou a função ventricular esquerda, contratilidade e relaxamento cardíaco, o que foi atribuído a efeitos anti-oxidantes (Garjani *et al*, 2011) e anti-inflamatórios (Cheng *et al*, 2007), respectivamente. Em modelo animal de insuficiência cardíaca por IAM determinado por ligadura coronária, como por nós realizado, outros autores mostraram também benefícios da atorvastatina sobre parâmetros bioquímicos (BNP - *brain natriuretic peptide*), o que foi atribuído à menor fibrose miocárdica por menor apoptose de cardiomiócitos (Song *et al*, 2011) e à redução de citocinas inflamatórias associado a aumento de citocinas anti-inflamatórias (Stumpf *et al*, 2009). Nossos dados não mostraram efeitos da atorvastatina sobre os marcadores inflamatórios plasmáticos avaliados, mas é possível que a resposta anti-inflamatória tenha se dado localmente e/ou que outros fatores benéficos não avaliados por nós estejam atuando (redução de estresse oxidativo, por exemplo). No entanto, nossos dados são os que pela primeira vez mostram que o uso prévio de atorvastatina é capaz de “proteger” o miocárdio do insulto isquêmico, pelo menos parcialmente, e também que esta proteção é de curta duração, o que não foi avaliado nos estudos acima citados.

A contratilidade miocárdica é, em parte, dependente da energia produzida pelo próprio músculo cardíaco (Lopaschuk *et al*, 1997), de forma que o prejuízo sobre os sistemas energéticos do coração, especialmente do ventrículo esquerdo, pode levar a uma insuficiência

contrátil (Neubauer *et al*, 1995). Uma menor quantidade de GLUT4 na membrana plasmática dos cardiomiócitos determina menor transporte de glicose nessas células (Sherman *et al*, 1993). Sabe-se que a isquemia (Davey *et al*, 2007; Montessuit *et al*, 1998) e a hipóxia (Sun *et al*, 1994) agudamente são determinantes de aumento de expressão de GLUT4 na membrana plasmática dos cardiomiócitos, mas uma vez que este processo esteja estabilizado, a expressão desta proteína é reduzida (de Leon *et al*, 2011; Remondino *et al*, 2000). Desta forma, o coração que sofreu um processo de infarto tenderá a apresentar aumento (precocemente) e redução (tardamente) de metabolismo energético (Murray *et al*, 2006), e por conseqüência, apresentar prejuízo na contratilidade miocárdica (Depre *et al*, 1999; Huang *et al*, 2009). Considerando o grupo que sofreu o IAM e não usou atorvastatina, nossos resultados mostraram-se compatíveis com a literatura (de Leon *et al*, 2011; Remondino *et al*, 2000): em avaliações realizadas no Protocolo A e B, houve aumento e redução da expressão de GLUT4 (fração microsomal e membrana plasmática), respectivamente. No entanto, a contratilidade miocárdica foi prejudicada nos grupos que sofreram IAM tanto precoce, como tardiamente, provavelmente por outros efeitos deletérios do processo isquêmico (inflamação, estresse oxidativo, apoptose de cardiomiócitos) que não foram minimizados pelo aumento de GLUT4 precocemente.

O uso da atorvastatina não aumentou os estoques de GLUT4 nem na fração microsomal e nem na membrana plasmática no coração após IAM, em nenhuma das avaliações realizadas, precoce (2 dias após o IAM, 14 dias de atorvastatina) e tardia (7 dias após o IAM, 21 dias de atorvastatina). Assim, uma provável explicação para a melhora da função cardíaca que ocorreu precocemente, mesmo sem ter havido aumento adicional da expressão de GLUT4 além daquele ocasionado pela isquemia, pode ter sido o uso de outros substratos como fonte energia (Opie, 1972), já que a oxidação dos ácidos graxos livres foi relatada previamente em corações após IAM recente (Remondino *et al*, 2000). Além disso,

como o coração expressa além do GLUT4, mesmo que em menor quantidade, o transportador de glicose tipo 1 (GLUT1) (Gould *et al*, 1993), é aceitável que o GLUT1 tenha uma função preponderante em situações de privação do GLUT4 na superfície celular, suprindo em parte demanda de glicose, como relatado em alguns estudos (Remondino *et al*, 2000; Tardy-Cantalupi *et al*, 1999).

Curiosamente, o uso de atorvastatina por período prolongado após o IAM (Protocolo B) determinou maior redução na expressão de GLUT4 na membrana plasmática, mas não na fração microsomal, mostrando que houve prejuízo na mobilização das vesículas com GLUT4 para a superfície celular pelo uso da droga tardiamente. Nossos resultados estão de acordo com o estudo de Takaguri e cols. (2008) que demonstraram, em células 3T3L1 tratadas com atorvastatina, uma diminuição na sinalização insulínica através da redução na fosforilação do IRS-1 (substrato do receptor de insulina) e na ativação da Akt (proteína quinase B), o que determinou menor translocação de GLUT4 para membrana plasmática e diminuição na captação de glicose nessas células (Takaguri *et al*, 2008). Além do efeito direto sobre a sinalização insulínica, outra hipótese para explicar nossos resultados pode ser baseada na expressão aumentada de citocinas inflamatórias, como TNF- $\alpha$  e IL-6, cuja ativação crônica reduz a translocação de GLUT4 para membrana plasmática pela inibição de proteínas da via insulínica (Hotamisligil *et al*, 1996; Plomgaard *et al*, 2005). Como em situações de IAM, os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 estão aumentados (Chen *et al*, 2011; Rattazzi *et al*, 2003), também demonstrado em nosso protocolo A. É aceitável que os níveis de expressão destas citocinas tenham se mantido elevados ao longo dos 7 dias após o IAM, diminuindo a translocação de GLUT4 para membrana celular. Mesmo considerando que a atorvastatina tem efeitos anti-inflamatórios (Furuya *et al*, 2009; Stumpf *et al*, 2009), os dados aqui descritos indicam que este potencial não foi capaz de reverter os efeitos deletérios induzidos pelo IAM, quer seja por este processo ser excessivamente intenso, quer seja pela dose utilizada ter sido menor do que

a necessária para tal. Uma outra explicação pode ser dada através do aumento na oxidação dos ácidos graxos livres, como um sistema de compensação energética referente à menor captação de glicose, que pode estar associado com o aumento das espécies reativas de oxigênio (Gambert *et al*, 2006), e por sua vez, causam prejuízo na sinalização insulínica em longo prazo (Fridlyand *et al*, 2006; Murray *et al*, 2006). Por fim, a lesão miocárdica também determina menor fluxo sanguíneo (Camici *et al*, 2011), conseqüentemente, menor disponibilidade de insulina nos cardiomiócitos, reduzindo a translocação de GLUT4, com isso o uso contínuo de atorvastatina não teria ativado mecanismos compensatórios para atenuar este efeito.

Concluimos que o uso de atorvastatina previamente à ligadura da artéria coronária em ratos é capaz de determinar melhora contrátil no miocárdio, a qual é fugaz e independe dos níveis de GLUT4 e de citocinas inflamatórias. Além disso, a continuidade deste tratamento não é capaz de trazer benefício adicional, ao contrário, havendo reversão das melhorias na contratilidade cardíaca e mostrando-se deletério em relação à expressão de GLUT4 em membrana plasmática, que é adicionalmente reduzida. Como nenhum efeito foi observado nos animais que usaram a atorvastatina sem a indução do infarto, supõe-se que o dano sobre a translocação de GLUT4 para membrana plasmática não foi causado apenas pelo uso da atorvastatina e sim pela exposição prolongada dos animais ao dano cardíaco. São necessários estudos complementares para especificar o curso temporal e talvez o aumento na dosagem da atorvastatina com objetivo de alcançar benefícios sobre o transporte de glicose e potencializar o efeito deste fármaco sobre a função cardíaca.

### **Suporte financeiro**

Fundo de Apoio à Pesquisa do Instituto de Cardiologia (FAPPIC), Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (Fapergs), Coordenação de Aperfeiçoamento de

Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

## Referências

- Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, **72**, 248-254.
- Camici PG, Olivotto I & Rimoldi OE (2011). The coronary circulation and blood flow in left ventricular hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol*.
- Cheitlin MD, Armstrong WF, Aurigemma GP, Beller GA, Bierman FZ, Davis JL, Douglas PS, Faxon DP, Gillam LD, Kimball TR, Kussmaul WG, Pearlman AS, Philbrick JT, Rakowski H, Thys DM, Antman EM, Smith SC, Jr., Alpert JS, Gregoratos G, Anderson JL, Hiratzka LF, Faxon DP, Hunt SA, Fuster V, Jacobs AK, Gibbons RJ & Russell RO (2003). ACC/AHA/ASE 2003 Guideline Update for the Clinical Application of Echocardiography: summary article. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/ASE Committee to Update the 1997 Guidelines for the Clinical Application of Echocardiography). *J Am Soc Echocardiogr*, **16**, 1091-110.
- Chen Y, Zhang Q, Liao YH, Cao Z, Du YM, Xia JD, Yang H & Chen ZJ (2011). Effect of Tumor Necrosis Factor-alpha on Neutralization of Ventricular Fibrillation in Rats with Acute Myocardial Infarction. *Mediators Inflamm*, 2011, 565238.
- Cheng G, Xu G, Cai HW, Wang HH & Bao XF (2007). Effect of atorvastatin on non-ischemic heart failure and matrix metalloproteinase-2 and 9 in rats. *Acta Pharmacol Sin*, **28**, 511-7.
- Davey KA, Garlick PB, Warley A & Southworth R (2007). Immunogold labeling study of the distribution of GLUT-1 and GLUT-4 in cardiac tissue following stimulation by insulin or ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **292**, H2009-19.

- de Leon EB, Bortoluzzi A, Rucatti A, Nunes RB, Saur L, Rodrigues M, Oliveira U, Alves-Wagner AB, Xavier LL, Machado UF, Schaan BD & Dall'Ago P (2011). Neuromuscular electrical stimulation improves GLUT-4 and morphological characteristics of skeletal muscle in rats with heart failure. *Acta Physiol (Oxf)*, **201**, 265-73.
- Depre C, Vanoverschelde J & Taegtmeyer H (1999). Glucose for the Heart. *Circulation*, **99**, 578-588.
- El-Menyar AA (2008). Cytokines and myocardial dysfunction: state of the art. *J Card Fail*, **14**, 61-74.
- Fridlyand LE & Philipson LH (2006). Reactive species and early manifestation of insulin resistance in type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*, **8**, 136-45.
- Furuya DT, Poletto AC, Favaro RR, Martins JO, Zorn TM & Machado UF (2009). Anti-inflammatory effect of atorvastatin ameliorates insulin resistance in monosodium glutamate-treated obese mice. *Metabolism*, **59**, 395-9.
- Gambert S, Vergely C, Filomenko R, Moreau D, Bettaieb A, Opie LH & Rochette L (2006). Adverse effects of free fatty acid associated with increased oxidative stress in postischemic isolated rat hearts. *Mol Cell Biochem*, **283**, 147-52.
- Garjani A, Andalib S, Biabani S, Soraya H, Doustar Y & Maleki-Dizaji N (2011). Combined atorvastatin and coenzyme Q10 improve the left ventricular function in isoproterenol-induced heart failure in rat. *Eur J Pharmacol*, **666**, 135-41.
- Gould GW & Holman GD (1993). The glucose transporter family: structure, function and tissue-specific expression. *Biochem J*, **295 ( Pt 2)**, 329-41.
- Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Gorgun CZ, Uysal KT, Maeda K, Karin M & Hotamisligil GS (2002). A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature*, **420**, 333-6.



- Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF & Spiegelman BM (1996). IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. *Science*, **271**, 665-8.
- Huang JP, Huang SS, Deng JY & Hung LM (2009). Impairment of insulin-stimulated Akt/GLUT4 signaling is associated with cardiac contractile dysfunction and aggravates I/R injury in STZ-diabetic rats. *J Biomed Sci*, **16**, 77.
- Iwasaka T, Sugiura T, Nakamura S, Okubo N & Inada M (1992). Left ventricular function in myocardial infarction. Predictive value during negative low-level exercise three weeks postinfarction. *Chest*, **102**, 335-40.
- Ji G, Zhao X, Leng L, Liu P & Jiang Z (2011). Comparison of dietary control and atorvastatin on high fat diet induced hepatic steatosis and hyperlipidemia in rats. *Lipids Health Dis*, **10**, 23.
- Kaur K, Sharma A, Dhingra S & Singal P (2006a). Interplay of TNF-alpha and IL-10 in regulating oxidative stress in isolated adult cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol*, **41**, 1023-30.
- Kaur K, Sharma A & Singal P (2006b). Significance of changes in TNF-alpha and IL-10 levels in the progression of heart failure subsequent to myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; **291(1)**:H106-H113.
- Lahoutte T (2007). Monitoring left ventricular function in small animals. *J Nucl Cardiol*, **14**, 371-9.
- Liu J & Rigel DF (2009). Echocardiographic examination in rats and mice. *Methods Mol Biol*, **573**, 139-55.
- Lopaschuk GD & Stanley WC (1997). Glucose metabolism in the ischemic heart. *Circulation*, **95**, 313-5.

- Lopes RD, Batista ML, Jr., Rosa JC, Lira FS, Martins E, Jr., Shimura AY, Brum PC, Lancha AH, Jr., Seelaender MC & Lopes AC (2010). Changes in the production of IL-10 and TNF-alpha in skeletal muscle of rats with heart failure secondary to acute myocardial infarction. *Arq Bras Cardiol*, **94**, 293-300, 313-20.
- Machado U, Shimizu I & Saito M (1994). Reduced content and preserved translocation of glucose transporter (GLUT 4) in white adipose tissue of obese mice. *Physiol Behav*, **55**, 621-25.
- Montessuit C, Papageorgiou I, Remondino-Muller A, Tardy I & Lerch R (1998). Post-ischemic stimulation of 2-deoxyglucose uptake in rat myocardium: role of translocation of Glut-4. *J Mol Cell Cardiol*, **30**, 393-403.
- Murray AJ, Lygate CA, Cole MA, Carr CA, Radda GK, Neubauer S & Clarke K (2006). Insulin resistance, abnormal energy metabolism and increased ischemic damage in the chronically infarcted rat heart. *Cardiovasc Res*, **71**, 149-57.
- Neubauer S, Horn M, Naumann A, Tian R, Hu K, Laser M, Friedrich J, Gaudron P, Schnackerz K, Ingwall JS & et al. (1995). Impairment of energy metabolism in intact residual myocardium of rat hearts with chronic myocardial infarction. *J Clin Invest*, **95**, 1092-100.
- Opie LH (1972). Metabolic response during impending myocardial infarction. I. Relevance of studies of glucose and fatty acid metabolism in animals. *Circulation*, **45**, 483-90.
- Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA & Braunwald E (1979). Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res*, **44**, 503-12.
- Pleger ST, Remppis A, Heidt B, Volkens M, Chuprun JK, Kuhn M, Zhou RH, Gao E, Szabo G, Weichenhan D, Muller OJ, Eckhart AD, Katus HA, Koch WJ & Most P (2005). S100A1 gene therapy preserves in vivo cardiac function after myocardial infarction. *Mol Ther*, **12**, 1120-9.

- Plomgaard P, Bouzakri K, Krogh-Madsen R, Mittendorfer B, Zierath JR & Pedersen BK (2005). Tumor necrosis factor-alpha induces skeletal muscle insulin resistance in healthy human subjects via inhibition of Akt substrate 160 phosphorylation. *Diabetes*, **54**, 2939-45.
- Rattazzi M, Puato M, Faggin E, Bertipaglia B, Zambon A & Pauletto P (2003). C-reactive protein and interleukin-6 in vascular disease: culprits or passive bystanders? *J Hypertens*, **21**, 1787-803.
- Remondino A, Rosenblatt-Velin N, Montessuit C, Tardy I, Papageorgiou I, Dorsaz PA, Jorge-Costa M & Lerch R (2000). Altered expression of proteins of metabolic regulation during remodeling of the left ventricle after myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol*, **32**, 2025-34.
- Sherman WM, Friedman JE, Gao JP, Reed MJ, Elton CW & Dohm GL (1993). Glycemia and exercise training alter glucose transport and GLUT4 in the Zucker rat. *Med Sci Sports Exerc*, **25**, 341-8.
- Song XJ, Yang CY, Liu B, Wei Q, Korkor MT, Liu JY & Yang P (2011). Atorvastatin inhibits myocardial cell apoptosis in a rat model with post-myocardial infarction heart failure by downregulating ER stress response. *Int J Med Sci*, **8**, 564-72.
- Stephens JM & Pekala PH (1991). Transcriptional repression of the GLUT4 and C/EBP genes in 3T3-L1 adipocytes by tumor necrosis factor-alpha. *J Biol Chem*, **266**, 21839-45.
- Stumpf C, Petzi S, Seybold K, Wasmeier G, Arnold M, Raaz D, Yilmaz A, Daniel WG & Garlischs CD (2009). Atorvastatin enhances interleukin-10 levels and improves cardiac function in rats after acute myocardial infarction. *Clin Sci (Lond)*, **116**, 45-52.

- Sun D, Nguyen N, DeGrado TR, Schwaiger M & Brosius FC, 3rd (1994). Ischemia induces translocation of the insulin-responsive glucose transporter GLUT4 to the plasma membrane of cardiac myocytes. *Circulation*, **89**, 793-8.
- Takaguri A, Satoh K, Itagaki M, Tokumitsu Y & Ichihara K (2008). Effects of atorvastatin and pravastatin on signal transduction related to glucose uptake in 3T3L1 adipocytes. *J Pharmacol Sci*, **107**, 80-9.
- Tardy-Cantalupi I, Montessuit C, Papageorgiou I, Remondino-Muller A, Assimacopoulos-Jeannet F, Morel DR & Lerch R (1999). Effect of transient ischemia on the expression of glucose transporters GLUT-1 and GLUT-4 in rat myocardium. *J Mol Cell Cardiol*, **31**, 1143-55.
- Thygesen K, Alpert JS & White HD (2007). Universal definition of myocardial infarction - Eur Heart J. *Eur Heart J*, **28**, 2525-38.
- Zhang RY, Yu P, Wang F, Shen JX & Wang YM (2009). [Effects of Trimetazidine upon ventricular remodeling and GLUT4 in diabetic rats after myocardial infarction]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, **89**, 1240-5.
- Zhang S, Zhang L, Sun A, Jiang H, Qian J & Ge J (2011). Efficacy of statin therapy in chronic systolic cardiac insufficiency: a meta-analysis. *Eur J Intern Med*, **22**, 478-84.

Tabela 1 – Avaliação cardiovascular por ecocardiografia dos animais estudados

<b>Protocolo A</b>					
	C	CAt	I	IAt	p (interação)
FEVE (%)	50,87 ± 3,9	47,96 ± 4,0	20,82 ± 3,4*†	33,49 ± 3,5*†‡	0,036
FE (%)	61,94 ± 3,5	62,50 ± 4,7	38,92 ± 4,2*†	41,24 ± 4,1*†‡	0,025
DS (cm)	0,39 ± 0,3	0,38 ± 0,4	0,54 ± 0,4*†	0,43 ± 0,5‡	0,007
DD (cm)	0,70 ± 0,06	0,68 ± 0,05	0,85 ± 0,06*†	0,80 ± 0,04†	0,044
Onda E (m/s)	1,24 ± 0,09	1,30 ± 0,25	0,93 ± 0,09*†	1,17 ± 0,09‡	0,040
Onda A (m/s)	0,59 ± 0,06	0,65 ± 0,06	0,42 ± 0,05*	0,49 ± 0,05	0,021
Razão E/A	2,1 ± 0,07	2,1 ± 0,16	1,79 ± 0,07	2,39 ± 0,07	NS
<b>Protocolo B</b>					
	C	CAt	I	IAt	p (interação)
FEVE (%)	46,11 ± 1,6	43,79 ± 1,3	17,29 ± 1,6*†	21,57 ± 1,6*†	<0,001
FE (%)	63,10 ± 2,8	64,78 ± 2,5	44,28 ± 3,1*†	46,66 ± 2,7*†	<0,001
DS (cm)	0,44 ± 0,2	0,44 ± 0,2	0,67 ± 0,2*†	0,65 ± 0,2*†	<0,001
DD (cm)	0,78 ± 0,2	0,78 ± 0,2	0,82 ± 0,1*†	0,84 ± 0,2*†	0,007
Onda E (m/s)	1,30 ± 0,09	1,23 ± 0,07	0,98 ± 0,09*	1,15 ± 0,08*†‡	0,001
Onda A (m/s)	0,61 ± 0,06	0,58 ± 0,05	0,44 ± 0,06*	0,52 ± 0,05	0,031
Razão E/A	2,1 ± 0,2	2,1 ± 0,2	2,3 ± 0,2	2,2 ± 0,2	NS

Tratamento de 14 dias com atorvastatina ou veículo oral, seguido do IAM (Protocolo A) ou + 7 dias de tratamento com atorvastatina ou veículo oral pós-IAM (Protocolo B), conforme Figura 1. C: cirurgia sham e veículo oral, CAt: cirurgia sham e atorvastatina, I: cirurgia de ligadura da coronária e veículo oral e IAt: cirurgia de ligadura da coronária e atorvastatina. FEVE: fração de encurtamento ventrículo esquerdo, FE: fração de ejeção, DS: diâmetro sistólico e DD: diâmetro diastólico. ANOVA fatorial de 2 vias seguido de post-hoc de Bonferroni. \* p<0,05 vs. C, † p<0,05 vs. CAt, ‡ p<0,05 vs. I. NS: não significativo.

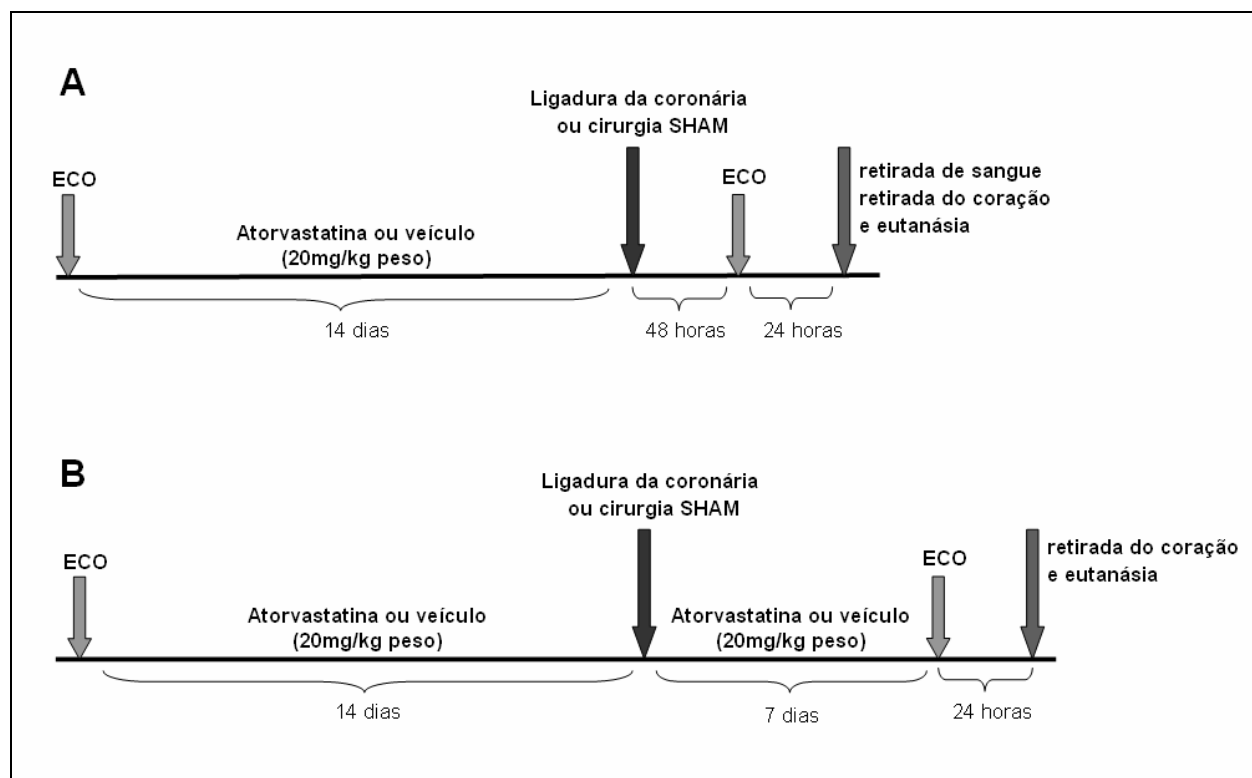


Figura 1 – Desenho experimental. **Protocolo A:** O experimento iniciou com avaliação ecocardiográfica em todos os animais. Seguiu-se administração de atorvastatina ou veículo por 14 dias. Após 48 horas foi retirado sangue, retirado o coração com consequente eutanásia. **Protocolo B:** O experimento iniciou com avaliação ecocardiográfica em todos os animais. Seguiu-se administração de atorvastatina ou veículo por 14 dias. A seguir foi feita a cirurgia de oclusão da coronária (IAM) ou cirurgia sham. Seguiram-se 7 dias com uso da atorvastatina ou veículo, quando então foi realizada nova ecocardiografia. Após 48 horas foi retirado o coração com consequente eutanásia.

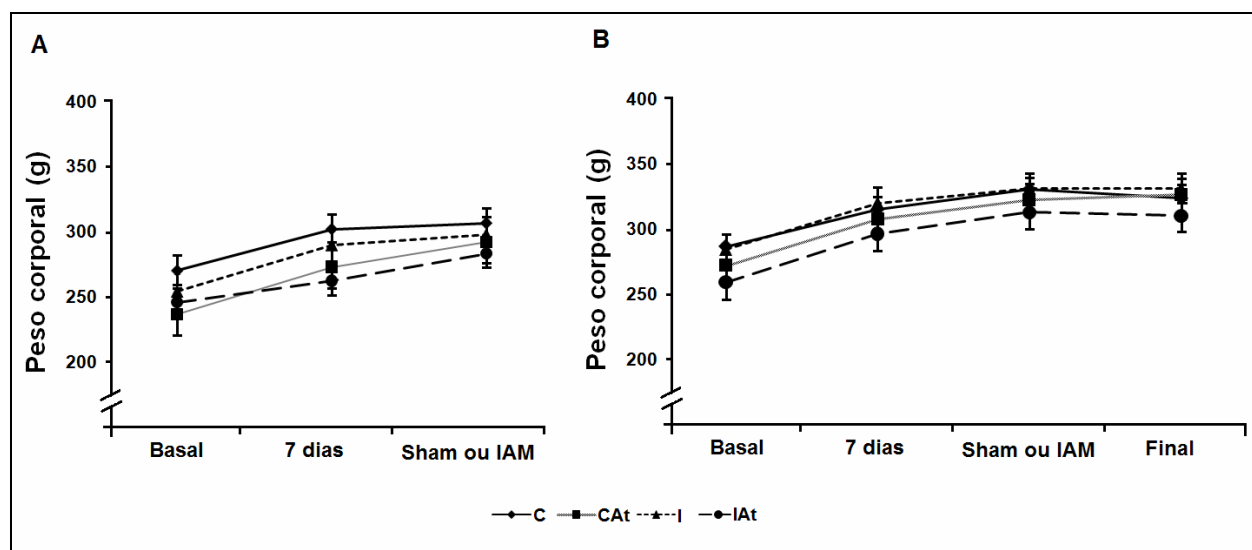


Figura 2 – Evolução do peso corporal durante experimento conforme **Protocolo A** (Painel A) e **B** (Painel B). C: cirurgia sham e veículo oral, CA: cirurgia sham e atorvastatina, I: indução do infarto agudo do miocárdio por ligadura da coronária e veículo oral e IA: indução do infarto agudo do miocárdio por ligadura da coronária e atorvastatina. Basal: início do experimento, 7 dias: 7 dias de tratamento com atorvastatina, Sham ou IAM: 14 dias de tratamento com atorvastatina ou veículo oral, a partir do início do experimento, foi realizada cirurgia sham ou indução do infarto agudo do miocárdio por ligadura da coronária, Final (somente protocolo B): período de 7 dias após a cirurgia sham ou indução do infarto agudo do miocárdio por ligadura da coronária. Foi utilizada ANOVA de medidas repetidas em cada protocolo.

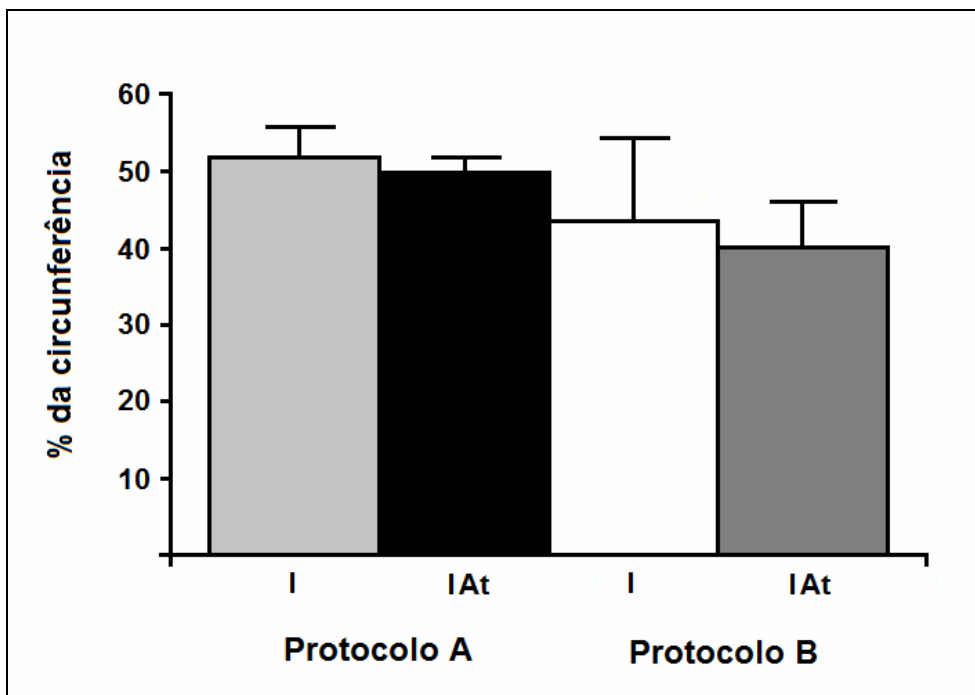


Figura 3 – Representação da área do infarto nos **Protocolos A e B**. I: indução do infarto agudo do miocárdio por ligadura da coronária e veículo oral e IAAt: indução do infarto agudo do miocárdio por ligadura da coronária e atorvastatina. Utilizada Anova uma via. Não houve diferença entre os grupos ( $p=0,362$ ).



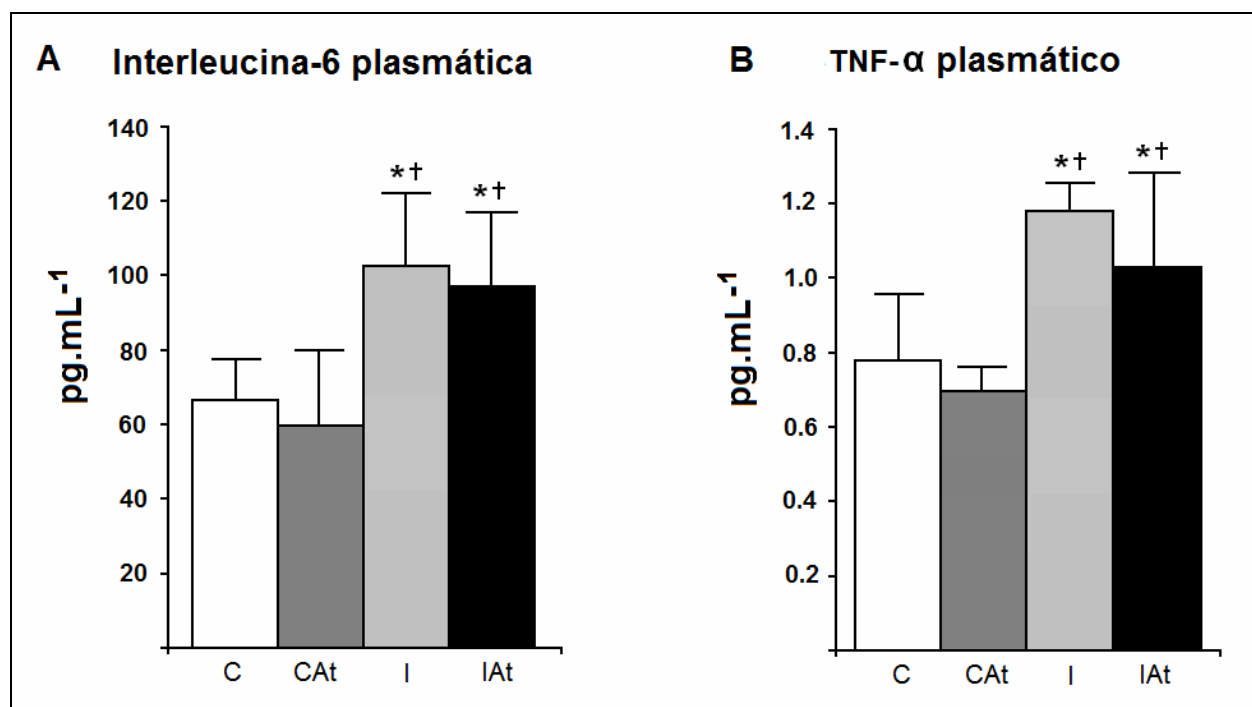


Figura 4 – Análise das concentrações plasmáticas de IL-6 e TNF- $\alpha$  em resposta ao IAM (**Protocolo A**). C: cirurgia sham e veículo oral, CA: cirurgia sham e atorvastatina, I: indução do infarto agudo do miocárdio por ligadura da coronária e veículo oral e IA: indução do infarto agudo do miocárdio por ligadura da coronária e atorvastatina. Painel A: representação das concentrações de IL-6. Painel B: representação das concentrações de TNF- $\alpha$ . ANOVA Fatorial de 2 vias (Painel A:  $p=0,015$ ; Painel B:  $p=0,002$ ) seguido do post-hoc de Bonferroni. \*  $p<0,05$  vs. C, †  $p<0,05$  vs. CA.

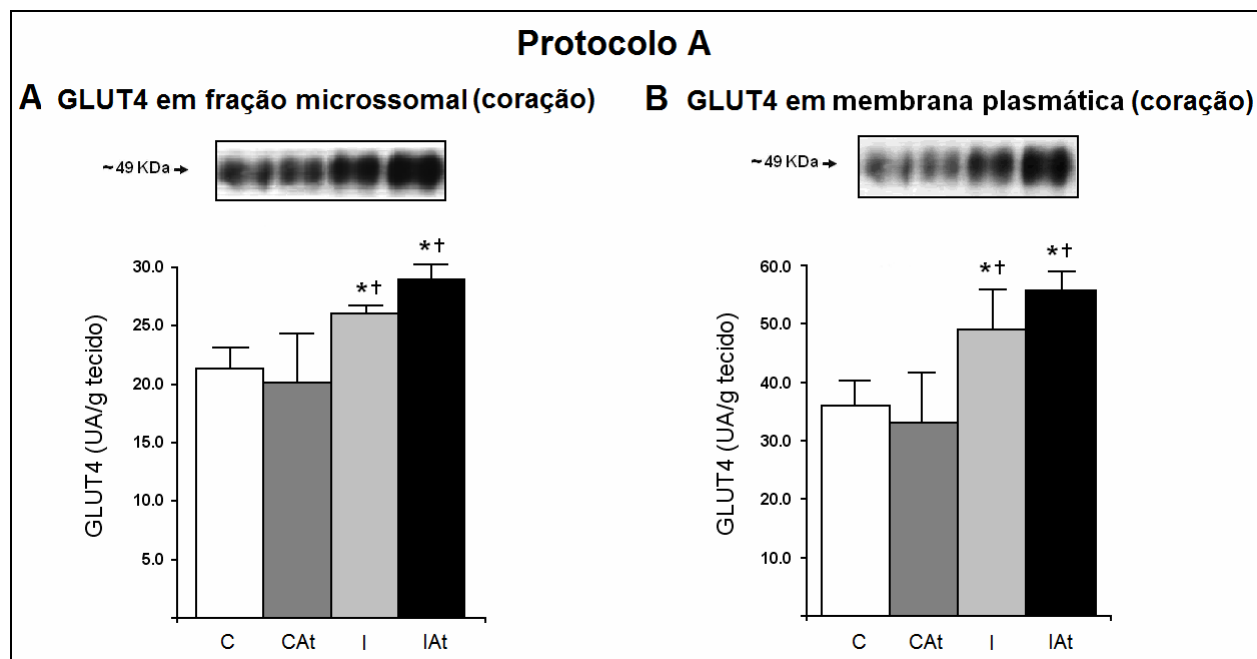


Figura 5 – Análise da expressão do GLUT4 do **Protocolo A**. Estão representadas as análises quantitativas e as respectivas bandas referentes ao *Western blot*. C: cirurgia sham e veículo oral, CAt: cirurgia sham e atorvastatina, I: indução do infarto agudo do miocárdio por ligadura da coronária e veículo oral e IAt: indução do infarto agudo do miocárdio por ligadura da coronária e atorvastatina. Painel A: representação da expressão do GLUT4 na fração microssomal. Painel B: representação da expressão do GLUT4 na membrana plasmática. UA: unidades arbitrárias. ANOVA Fatorial de 2 vias (Painel A:  $p=0,003$ ; Painel B:  $p<0,001$ ) seguido do post-hoc de Bonferroni. \*  $p<0,05$  vs. C, †  $p<0,05$  vs. CAt, ‡  $p<0,05$  vs. I.

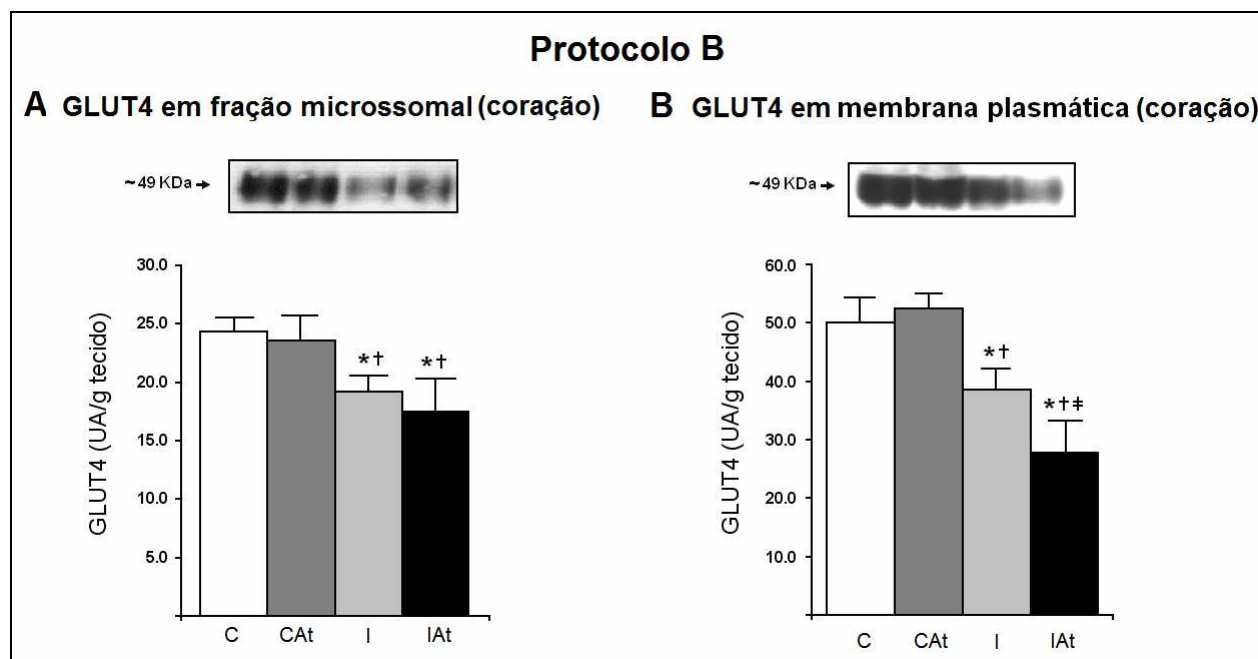


Figura 6 – Análise da expressão do GLUT4 do **Protocolo B** (tratamento com atorvastatina 7 dias após IAM). Estão representadas as análises quantitativas e as respectivas bandas referentes ao *Western blot*. C: cirurgia sham e veículo oral, CA: cirurgia sham e atorvastatina, I: indução do infarto agudo do miocárdio por ligadura da coronária e veículo oral e IA: indução do infarto agudo do miocárdio por ligadura da coronária e atorvastatina. Painel A: representação da expressão do GLUT4 na fração microssomal. Painel B: representação da expressão do GLUT4 na membrana plasmática. UA: unidades arbitrárias. ANOVA Fatorial de 2 vias (Painel A:  $p=0,036$ ; Painel B:  $p=0,022$ ) seguido do post-hoc de Bonferroni. \*  $p<0,05$  vs. C, †  $p<0,05$  vs. CA.