

Adriana de Andrade Ramos Nogueira

“Marcadores bioquímicos de dano muscular em pacientes tratados com estatinas”

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade
de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Antônio de Pádua Mansur

São Paulo

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Nogueira, Adriana de Andrade Ramos

Marcadores bioquímicos de dano muscular em pacientes tratados com
estatinas / Adriana de Andrade Ramos Nogueira. -- São Paulo, 2017.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Cardiologia.

Orientador: Antônio de Pádua Mansur.

Descritores: 1.Estatina 2.Creatina quinase 3.Creatina quinase forma MB
4.Anidrase carbônica III 5.Miopatía 6.Mialgia 7.Miosite

USP/FM/DBD-136/17

Não é sobre chegar no topo do mundo e saber que venceu.

É sobre escalar e sentir que o caminho te fortaleceu.

Ana Vilela

Aos meus pais, **Mário** e **Mirna**, que amorosamente me formaram e conduziram até mais esta conquista, acreditando e incentivando em todas as etapas, sempre me surpreendendo com sua dedicação à minha família e meus sonhos.

Ao meu esposo, **Marcos Klaus**, que constantemente me apoia com seu amor, divide cada conquista e não me deixa abater nos momentos difíceis.

Aos meus filhos, luz da minha vida, **Thiago** e **Daniel**, que me inspiram a ser melhor e me ensinam o amor incondicional a cada dia.

Às minhas amadas irmãs, **Patricia** e **Marina**, que garantem os momentos divertidos e tornam minha vida mais leve, sempre ao meu lado, apoiando e incentivando.

À minha irmã amada **Flávia** que certamente dividiria conosco essa imensa alegria, cuja saudade continua a nos manter unidas.

Aos meus avós queridos, **Lola**, **Irineu**, **Ester** e **José**, que vibrariam com essa grande realização em minha vida.

Ao **Prof. Dr. Antônio de Pádua Mansur** pela considerável disposição e dedicação em orientar-me nessa importante jornada.

À **Dra. Célia Maria Cássaro Strunz** pela incansável motivação, incentivo e paciência nas orientações tão oportunas para o resultado deste trabalho. E por sua generosidade em compartilhar todo seu conhecimento e experiência.

Aos amigos do Laboratório de Análises Clínicas, especialmente aos funcionários da seção de Bioquímica, à **Ana Paula Pacanaro**, à **Rosemeire Zanon**, à **Janete Matos de Almeida**, pela disposição e carinho em contribuir para este estudo.

Aos pacientes que foram gentis e não hesitaram em participar da pesquisa.

Aos membros participantes da minha banca de qualificação, **Prof. Dr. Raul Maranhão**, **Prof. Dr. Whady Hueb** e **Prof. Dr. Marcelo Bertolami** pelas valiosas contribuições para a finalização desta tese.

À Comissão de Pós-Graduação **Sra. Neusa Rodrigues Dini**, **Sra. Juliana Lattari Sobrinho** e **Sra. Mônica Souto** pela atenção e orientação.

Às amigas **Adma**, **Flávia**, **Cristina**, **Christiane**, **Ana Paula**, **Sabrina**, **Alessandra**, **Vanessa** e **Marli** tão importantes nesse processo, que com tamanha paciência me ajudaram nos momentos difíceis com seu carinho e ombros dispostos.

À minha grande e querida família, sogros, cunhados, sobrinhos, tios e primos pelo apoio e carinho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	12
3. MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.1 Critérios de inclusão	15
3.2 Critérios de exclusão	15
3.3 Análises Laboratoriais	16
3.4 Análise estatística	19
4. RESULTADOS	21
4.1 CPK	22
4.2 Miosite	24
4.3 Sexo	27
4.4 CKMB	29

4.5 Anidrase Carbônica III	31
4.6 Diabetes Mellitus	31
5. DISCUSSÃO	35
5.1 CPK	36
5.2 Miosite	37
5.3 Sexo	39
5.4 CKMB	40
5.5 Anidrase Carbônica III	41
5.6 Diabetes Mellitus	42
6. CONCLUSÕES	44
7. ANEXOS	46
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

LISTA DE ABREVIATURAS

CPK: creatinofosfoquinase

CKMB: isoenzima MB da creatinofosfoquinase

CKMM: isoenzima MM da creatinofosfoquinase

CKBB: isoenzima BB da creatinofosfoquinase

HDL: lipoproteína de alta densidade

LDL: lipoproteína de baixa densidade

PCR: proteína C reativa

AST: asparato aminotransferase

ALT: alanina aminotransferase

CA: anidrase carbônica

HMG CoA: 3-hidroxi 3-metilglutaril coenzima A

CoQ10: coenzima Q10

BHB: ácido beta-hidroxibutírico

IAM: infarto agudo do miocárdio

DCV: doença cardiovascular

DAC: doença arterial coronariana

IMC: índice de massa corpórea

LSN: limite superior de normalidade

IC: intervalo de confiança

TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido

OR: odds ratio

ACC: American College of Cardiology

AHA: American Heart Association

CWG: Canadian Working Group

NLA: National Lipid Association

IFCC: International Federation of Clinical Chemistry

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1: Definições de sintomas musculares associados às estatinas.....	4
Tabela 2: Fatores de risco para sintomas musculares associados às estatinas.....	9
Tabela 3: Variáveis clínicas e laboratoriais relacionadas aos níveis de CPK.....	23
Tabela 4: Variáveis clínicas e laboratoriais relacionadas à ausência ou presença de miosite.....	25
Tabela 5: Análise da regressão logística para variável dependente “miosite” e independentes “idade, sexo, IMC, medicação [sinvastatina (0)/atorvastatina (1)], AST, CPK e CKMB” para a população total, mulheres e homens.....	26
Tabela 6: Variáveis clínicas e laboratoriais relacionadas ao sexo dos pacientes.....	28
Tabela 7: Variáveis clínicas e laboratoriais relacionadas aos níveis de CKMB.....	30
Tabela 8: Variáveis clínicas e laboratoriais relacionadas à ausência ou presença de diabetes.....	32
Tabela 9: Análise de regressão logística para variável dependente “diabetes” e independentes “idade, sexo, IMC, medicação [sinvastatina (0)/atorvastatina (1)], AST, CPK e CKMB” para a população total, mulheres e homens.....	33
Figura 1: Odds ratio para miosite.....	27
Figura 2: Odds ratio para diabetes.....	34

RESUMO

Nogueira, AAR. **Marcadores bioquímicos de dano muscular em pacientes tratados com estatinas.** São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo. 2017

Introdução: As estatinas são drogas amplamente utilizadas na prevenção primária e secundária de doenças cardiovasculares, por reduzirem o nível de colesterol. Porém alguns pacientes podem apresentar elevação da creatinofosfoquinase (CPK) e sintomas musculares relacionados ao seu uso. Além da CPK, outros marcadores de dano muscular podem apresentar alterações. Este estudo analisou a concentração dos marcadores bioquímicos, CKMB e anidrase carbônica III (CAIII) e sua relação com a presença de miosite. **Métodos:** Foram selecionados pacientes em tratamento com estatinas e com elevação da CPK. Foram realizadas as determinações de CKMB e CAIII e analisadas as variáveis clínicas e laboratoriais destes pacientes. **Resultados:** Cerca de 10% dos pacientes em tratamento com estatina apresentaram elevações de CPK acima 1x o limite superior de normalidade (LSN). Desses, 50,4% apresentaram sintomas musculares, definido como miosite. O uso de sinvastatina [OR=2,24 (IC95%:1,47-3,42)], o índice de massa corpórea >28 Kg/m² [OR=1,06 (IC95%: 1,01-1,10)] e a CKMB > 1xLSN [OR=1,59 (IC95%: 1,02-2,49)] apresentaram-se como preditores independentes para a ocorrência de miosite. A CKMB aumentada foi observada em 36,2% dos pacientes (7,17±4,4 ng/mL). Os pacientes com e sem miosite apresentaram valores semelhantes de CAIII (211,3±93,4pg/mL vs 204,0±84,6pg/mL; p=0,549). Pacientes diabéticos apresentaram elevações significantes de CKMB em relação aos não diabéticos (4,8±4,6ng/mL vs 3,5±2,4ng/mL; p=0,0006) e não apresentaram diferenças quanto à presença de miosite. **Conclusão:** A CKMB apresentou alteração em parte dos pacientes tratados com estatinas e foi um preditor independente para a presença de miosite. A CAIII não foi considerada um bom marcador de dano muscular na população deste estudo.

Descritores: Estatina, CPK, CKMB, anidrase carbônica III, miopatia, mialgia, miosite.

ABSTRACT

Nogueira, AAR. **Biochemical markers of muscle damage in patients treated with statins.** São Paulo: School of Medicine. University of São Paulo. 2017

Introduction: Statins are drugs widely used in primary and secondary prevention of cardiovascular diseases, due to the decreasing effect on cholesterol level. However, some patients may present elevated levels of creatine phosphokinase (CK) and muscle symptoms related to statin use. In addition to CK, other markers of muscle damage may present changes. This study analyzed the concentration of biochemical markers, CKMB and carbonic anhydrase III (CAIII) and related them to the presence of myositis. **Methods:** Patients on statin therapy and CK elevation were selected. CKMB and (CAIII) assays were performed and the clinical and laboratory variables of these patients were analyzed. **Results:** About 10% of the patients receiving statin therapy (6692) presented CK elevations above 1x upper reference limit (URL). Muscular symptoms, defined as myositis, were presented in 50.4% of these patients. Use of simvastatin [OR=2,24 (IC95%:1,47-3,42)], a body mass index > 28 kg / m² [OR = 1.06 (95% CI: 1.01-1, 10)] and a concentration of CKMB > 1x URL [OR = 1.59 (95% CI: 1.02-2.49)] presented as independent predictors for the occurrence of myositis. Increased CKMB was observed in 36.2% of patients (7.17 ± 4.4 ng / mL). Patients with and without myositis had similar CAIII values (211.3 ± 93.4 pg / mL vs 204.0 ± 84.6 pg / mL, p = 0.549). Diabetic patients showed significant elevations of CKMB compared to non-diabetic patients (4.8 ± 4.6 ng / mL vs. 3.5 ± 2.4 ng / mL, p = 0.0006) and did not present differences regarding the presence of myositis. **Conclusion:** CKMB level changed in part of the patients treated with statins and this enzyme was an independent predictor for the presence of myositis. CAIII was not considered a good marker of muscle damage in the studied population.

Descriptors: Statin, CK, CKMB, Carbonic anhydrase III, Myopathy, Myalgia, Myositis.

As estatinas são um grupo de substâncias redutoras de colesterol que agem inibindo a enzima 3-hidroxi 3-metilglutaril coenzima A (HMG CoA) redutase, que catalisa uma etapa limitante no processo de síntese do colesterol. Estas substâncias ao reduzirem a concentração de produtos resultantes da ação da HMG CoA redutase, incluindo o mevalonato, levam ao aumento da expressão de receptores para LDL colesterol nos hepatócitos e com isto promovem a retirada da LDL da circulação¹.

As estatinas são amplamente utilizadas na prevenção primária e secundária de eventos cardiovasculares. Desde a introdução da lovastatina nos Estados Unidos em 1987, o uso de estatinas tem superado 100 milhões de prescrições por ano², com um número estimado de 25 milhões de usuários em todo o mundo³.

O estudo WOSCOPS, analisou a prevenção primária do uso da pravastatina em indivíduos com hipercolesterolemia na incidência de infarto agudo do miocárdio (IAM) e na mortalidade de origem cardíaca. Este estudo mostrou redução global de 26% do LDL colesterol, de 31% no risco de IAM e de 32% na mortalidade por doenças cardiovasculares (DCV).⁴ O estudo 4S analisou a prevenção secundária do uso da sinvastatina em indivíduos com doença arterial coronariana (DAC) prévia na incidência de IAM e na mortalidade de origem cardíaca. Este estudo mostrou redução global de 35% do LDL colesterol, de 34% no risco de algum evento cardiovascular e de 42% na mortalidade por DAC.⁵ Posteriormente, buscou-se determinar os níveis de LDL colesterol que estariam relacionados à melhora clínica. O estudo CARE analisou o efeito da pravastatina 3 a 20 meses após IAM e mostrou redução de eventos cardiovasculares somente nos pacientes com LDL>125mg/dL.⁶ O estudo AFCAPS/TexCAPS de prevenção primária analisou o efeito da lovastatina em indivíduos com LDL-colesterol entre 110 a 190mg/dL e observou significativa redução dos eventos cardiovasculares mas sem influência na mortalidade.⁷

As estatinas, geralmente, são muito bem toleradas pelos pacientes em tratamento, porém, alguns estudos têm atribuído a elas vários efeitos colaterais, incluindo dores musculares, aumento da creatinofosfoquinase (CPK), desconforto gastro-intestinal, fadiga, elevação de transaminases, neuropatia periférica, insônia, sintomas neurocognitivos e um discreto aumento na incidência de diabetes.^{8,9}

O aparecimento do diabetes ocorre em 0,2% dos pacientes tratados com estatinas e está relacionado com a dose usada.^{10, 11} Normalmente, apresenta-se em doentes com fatores de risco para a doença, tais como, tolerância à glicose diminuída e presença de características da síndrome metabólica.¹²

De todos esses, os sintomas musculares, a elevação da CPK ou a combinação dos dois são os mais prevalentes e importantes eventos adversos associados à terapia com estatinas.¹³

As definições de miopatia relacionadas às estatinas são frequentemente inconsistentes e de difícil interpretação.¹⁴ O “American College of Cardiology” (ACC) e a “American Heart Association” (AHA)¹⁵, o “Canadian Working Group” (CWG)¹⁶ e a “National Lipid Association” (NLA)¹⁷ propuseram definições para padronizar os termos referentes aos sintomas musculares relacionados ao uso de estatinas (Tabela 1).

Tabela 1: Definições de sintomas musculares associados às estatinas

ACC/AHA	CWG	NLA
Miopatia: qualquer sintoma muscular	Miopatia: qualquer sintoma muscular	Miopatia: fraqueza
Mialgia: sintoma muscular e CPK $\leq 1 \times$ LSN	Mialgia: sintoma muscular e CPK $\leq 1 \times$ LSN	Mialgia: dor, rigidez, câimbras
Miosite: sintoma muscular e CPK $\geq 1 \times$ LSN	Miosite: sintoma muscular e CPK $\geq 1 \times$ LSN Aumento de CPK: Leve G1 $>1 \times \leq 5 \times$ LSN Leve G2 $>5 \times \leq 10 \times$ LSN Moderado $>10 \times \leq 50 \times$ LSN Severo $>50 \times$ LSN	Miosite: inflamação
		Mionecrose: CPK $3 \times$ LSN Aumento leve de CPK $>3 \times < 10 \times$ LSN Aumento moderado de CPK $>10 \times < 50 \times$ LSN Aumento severo CPK $>50 \times$ LSN
Rabdomiólise: CPK $>10 \times$ LSN	Rabdomiólise: CPK $> 10 \times$ LSN	Rabdomiólise clínica CPK $> 1 \times$ LSN e creatinina basal $>0,5$ mg/dL

Adaptado de Thompson *et al.*¹⁸

ACC/AHA: American College of Cardiology/American Heart Association; CWG: Canadian Work Group; NLA: National Lipid Association; CPK: creatinofosfoquinase; LSN: Limite superior de normalidade

Todas as definições apresentadas reconhecem que os sintomas musculares relacionados às estatinas, sem alteração nos níveis de CPK são os mais comuns entre os pacientes. Essas

definições são úteis para quantificar os sintomas musculares nos ensaios clínicos, porém, na prática clínica, o diagnóstico depende da avaliação clínica subjetiva.¹⁸

A forma mais severa de dano muscular relacionado ao uso de estatinas é a rabdomiólise. Nela ocorre a lise aguda e maciça de células musculares esqueléticas com mudanças significativas dos eletrólitos no fluido extracelular e com a liberação de grandes quantidades de CPK e mioglobina no sangue. A rabdomiólise pode resultar em insuficiência renal aguda, devido à precipitação da mioglobina nos túbulos renais.¹⁷ Porém, a incidência desta condição em associação ao uso de estatina é muito baixa, em torno de 1,6 em 100.000 pacientes/ano.²

Os sintomas musculares associados às estatinas podem comprometer a qualidade de vida dos pacientes, a aderência à medicação e conseqüentemente o resultado do tratamento.¹⁹

Os sintomas musculares são mais comumente manifestados como dor, fraqueza, rigidez e câimbras e são mais frequentes em pacientes fisicamente ativos.²⁰ Esses sintomas aparecem no início da terapia com estatinas ou após um aumento da dose e tendem a desaparecer em algumas semanas após a descontinuação do uso do medicamento.¹⁷ No entanto, sintomas musculares leves ou moderados são negligenciados na prática clínica e, conseqüentemente, a sua frequência é provavelmente subestimada.²¹

Uma meta-análise realizada por Kashani *et al*²² (21 estudos analisados com 48.138 pacientes) demonstrou que não houve diferença significativa para incidência de mialgia entre os pacientes tratados com estatinas e os pacientes do grupo placebo (risco relativo, 0,99; 95% IC, 0,96-1,03). Na análise individual das estatinas, somente a atorvastatina apresentou um aumento significativo no risco para mialgia quando comparada ao placebo (5,1% vs 1,6%; p=0,04). A rosuvastatina apresentou alta incidência de mialgia e elevação da CPK em comparação aos grupos placebos. Porém o baixo número de pacientes em uso de rosuvastatina nos ensaios clínicos reduziu o poder de detectar uma alteração estatisticamente significativa. Nos estudos analisados na meta-análise, a elevação de CPK e a rabdomiólise não foram mais comuns nos grupos tratados com estatinas em comparação aos grupos placebos.²²

Outra meta-análise realizada com 135 ensaios clínicos randomizados controlados por placebo, com a participação de 246.955 pacientes forneceu evidências sobre a tolerabilidade e os danos das estatinas. Nesses estudos as estatinas foram associadas a um

aumento do risco de diabetes mellitus e elevações das transaminases hepáticas, porém sem efeito estatisticamente detectável na mialgia, miopatia, rabdomiólise e câncer. Doses mais elevadas de estatinas resultaram em maior probabilidade de elevações de CPK e descontinuação do uso da medicação devido aos eventos adversos.²³

Os ensaios clínicos apresentam taxas mais baixas de ocorrência de sintomas musculares quando comparados aos estudos observacionais. Essa diferença pode ser atribuída à ausência de avaliação de queixas musculares e exclusão de pacientes com histórico de doenças musculares ligadas às estatinas ou com fatores de risco para desenvolvimento de mialgia. Dessa forma, a incidência de sintomas musculares ligados às estatinas pode parecer subestimada nesses estudos.¹⁷

Os estudos observacionais indicaram que 10%²⁰ a 25%²⁴ dos pacientes tratados com estatinas relataram algum tipo de sintoma muscular. Em uma pesquisa realizada pela internet com usuários de estatina, 60% relataram a presença de sintomas musculares associados à droga e 62% relataram que abandonaram o tratamento por conta dos efeitos colaterais.²⁴

O estudo observacional PRIMO envolveu 7924 pacientes que apresentavam hipercolesterolemia e receberam altas doses de estatinas por 3 meses antes do início do estudo (atorvastatina 40 ou 80 mg/dia; fluvastatina 80 mg/dia; pravastatina 40 mg/dia; sinvastatina 40 ou 80 mg/dia). Um total de 832 pacientes (10,5%) reportaram sintomas musculares.²⁰

Outro estudo observacional, conduzido por Nichols e Koro, que avaliou uma coorte de 32225 pacientes diabéticos e não diabéticos, demonstrou que o início da terapia com estatinas aumentou em 71% o risco da ocorrência de miopatia, apesar de não demonstrar aumento no risco de rabdomiólise e nem elevação clinicamente significativa de CPK nos pacientes.²⁵

A base biológica da miopatia induzida por estatinas não é bem compreendida. Porém existem algumas hipóteses que procuram explicar o mecanismo pelo qual as estatinas induzem a toxicidade muscular.

Uma delas é que a estatina poderia diminuir o teor de colesterol no sarcolema, resultando em alterações na fluidez da membrana, alterando a sua integridade e levando à degradação e necrose.^{26, 27} Porém, em pacientes que apresentam distúrbios genéticos da síntese do

colesterol e, portanto, apresentam concentrações de colesterol reduzidas, não foi observada a ocorrência de miopatia.²⁸

Outro mecanismo proposto de miopatia induzida por estatina é uma deficiência da coenzima Q10 (CoQ10) que é um metabólito da via da HMG-CoA redutase.²⁹ As estatinas inibem a síntese de mevalonato, um precursor de CoQ10 que desempenha um papel fundamental na cadeia de transporte de elétrons e uma redução dessa coenzima pode resultar em função respiratória anormal das mitocôndrias que pode levar à miopatia.^{30, 31}

Outra hipótese existente sugere que as estatinas, através de um efeito pleiotrópico, induzem a apoptose. Elas atuam na diminuição da síntese de produtos alternativos do metabolismo do mevalonato, como os isoprenóides. Os isoprenóides são lipídios importantes que participam das modificações pós-traducionais de proteínas associadas às membranas, como a Ras e Rho (proteínas da família das GTPases). A isoprenilação, farnesilação e geranilgeranilação dessas proteínas regulam sua translocação para a membrana plasmática e/ou suas atividades. A apoptose induzida por estatina provavelmente ocorre em consequência da depleção de proteínas geranilgeraniladas ou proteínas farnesiladas, aumentando os níveis de cálcio citosólico e ativando a cascata mitocondrial apoptótica.³²

O aumento do cálcio citosólico ativa as enzimas proteolíticas caspase-3 e caspase-9, que tem papel central na morte celular. Esta teoria é apoiada por um estudo *in vitro* que demonstrou que a apoptose induzida por estatina é impedida pela suplementação com os isoprenóides pirofosfato de farnesila e pirofosfato geranilgeranil.³³

A regulação do cálcio é fundamental para a função normal das células musculares.³⁴ Sirvent *et al*, demonstrou que a aplicação de altas doses de sinvastatina em fibras musculares humanas saudáveis gera alta liberação de cálcio a partir do retículo sarcoplasmático após a alteração da função mitocondrial. Foi demonstrado que uma modificação específica do complexo I da cadeia respiratória mitocondrial, representa a fase inicial de uma cascata de mecanismos celulares deletérios induzida pela sinvastatina que levam à desregulação da homeostase do cálcio, o que pode levar à indução da miotoxicidade *in vivo*.³⁵

O mesmo resultado foi observado em um estudo realizado com pacientes tratados com estatina com e sem expressão clínica e biológica (alteração de CPK) de sintomas musculares. Esses pacientes apresentaram comprometimento na função mitocondrial e desregulação na homeostase do cálcio.³⁶

Alguns determinantes genéticos também podem aumentar o risco para a ocorrência da miotoxidade induzida pelas estatinas. Variações no gene SLCO1B1, que codifica o polipeptídeo OATP1B que regula a absorção hepática das estatinas, parece ter uma forte associação com a miopatia induzida por estatina.³⁷ Da mesma forma, variações genéticas e mutações dos genes CYP e COQ2 podem tornar os indivíduos susceptíveis ao desenvolvimento da miopatia, além de agravar miopatias metabólicas e outras desordens neuromusculares.³⁸

Os sintomas musculares associados ao tratamento com estatinas parecem ocorrer em pacientes que apresentam alguns fatores de risco que combinados com o tratamento, aumentam a predisposição para essa condição.

A miopatia ocorre, na maioria dos casos, em pacientes que fazem uso de altas doses de estatinas. Os pacientes idosos, especialmente as mulheres e os diabéticos com insuficiência renal crônica parecem estar mais suscetíveis a esta condição. A interação medicamentosa oferece um importante risco para a ocorrência de miopatias em pacientes tratados com estatinas.¹⁵ Outros fatores de riscos estão apresentados na tabela 2.

O estudo PRIMO demonstrou que o histórico familiar de sintomas musculares apareceu como um preditor significativo de dor muscular associada ao uso de estatinas. Assim, uma predisposição genética pode desempenhar um importante papel na ocorrência de sintomas musculares associados ao tratamento com estatinas.²⁰

Tabela 2: Fatores de risco para sintomas musculares associados às estatinas.

Fatores endógenos

- Idade avançada >80 anos
- Sexo feminino
- Etnia asiática
- Baixo índice de massa corpórea (IMC)
- Histórico de dor muscular inexplicável
- Histórico de elevação de CPK
- Histórico familiar de miopatia
- Histórico familiar de miopatia com uso de estatina
- Doença **neuromuscular**
- Doença renal grave
- Doença hepática aguda ou descompensada
- Hipotireoidismo
- Diabetes mellitus
- Polimorfismo da isoenzima CYP

Fatores exógenos

- Altas doses de estatina
- Ingestão de álcool
- Uso de drogas ilícitas (cocaína, anfetaminas)
- Interação da estatina com outras drogas: fibratos (particularmente genfibrozila), ácido nicotínico, amiodarona, verapamil, varfarina, ciclosporina, antibiótico macrolídeo, antifúngico azole, inibidor de protease, nefazodona.
- Consumo de grandes quantidades de grapefruit
- Cirurgias com demanda metabólica
- Exercício físico pesado

Adaptado de Mancini *et al.*³⁹

IMC: Índice de massa corpórea

O diagnóstico da miotoxicidade induzida por estatinas baseia-se na história clínica do paciente, exame clínico e em testes laboratoriais e a confirmação diagnóstica pode ser feita por biópsia muscular.⁴⁰ A monitorização da toxicidade muscular dos pacientes tratados com estatinas inclui medições da CPK, embora os testes laboratoriais de rotina sejam recomendados apenas para os pacientes sintomáticos.⁴¹

A CPK é uma enzima presente em tecido e células que consomem grande quantidade de energia como nos músculos esqueléticos e cardíacos. É o melhor marcador para a detecção e monitorização de doenças do músculo esquelético, apesar de suas isoenzimas estarem presentes em outros tecidos humanos.⁴²

A CPK apresenta duas subunidades, M e B, que compõem os 3 principais grupos de isoenzimas CKMM, CKMB e CKBB. A CKMM está presente na musculatura esquelética e cardíaca e representa cerca de 97% e 80% da atividade da CPK total, respectivamente. A CKBB é encontrada principalmente no cérebro. A CKMB é predominantemente encontrada no músculo cardíaco, onde compõem cerca de 20% da atividade total da CPK. No músculo esquelético, em condições normais, a relação CKMB/CPK é de 0 a 3%.⁴³

Níveis elevados de CKMB podem ser indicativos de lesão miocárdica. O primeiro aumento da isoenzima no infarto agudo do miocárdio (IAM) ocorre de 4 a 6 horas após o início dos sintomas. A concentração atinge um pico em aproximadamente 12 a 24 horas e retorna ao seu valor basal após 36 a 72 horas.⁴⁴

Apesar da ampla utilização da CKMB como marcador específico na detecção de dano miocárdico, esta isoenzima também se encontra presente na musculatura esquelética.

Indivíduos em situações de exercício intenso, como por exemplo, maratonistas, podem estar submetidos a um estado crônico de necrose da fibra muscular e regeneração levando a um aumento da CKMB, que é uma isoenzima ligada à fibra tipo I e, portanto à regeneração.^{45,}

^{46,} ⁴⁷ Em miopatias destrutivas, como a distrofia muscular de Duchenne, na doença inflamatória do músculo, polimiosite e dermatomiosite,⁴⁸ e no músculo esquelético em indivíduos com doença renal crônica, esta enzima encontra-se aumentada juntamente com a CPK total.⁴⁹

Em pacientes com distrofia muscular de Duchenne a relação CKMB/CPK pode ser superior a 10%.⁴⁴ Em maratonistas essa relação fica em torno de 8,9%.⁴⁵

Além da CPK e da CKMB outro marcador que pode sinalizar dano muscular é a anidrase carbônica tipo III.

As anidrases carbônicas são metaloproteinases presentes em todos os seres vivos.⁵⁰ Em muitos organismos, essas enzimas estão envolvidas em processos fisiológicos cruciais ligados ao pH e à homeostase/detecção de CO₂; reações biossintéticas, tais como a gliconeogênese, lipogênese e ureagênese; respiração e transporte de CO₂/bicarbonato; secreção eletrolítica em uma variedade de tecidos e órgãos; reabsorção óssea; calcificação; tumorigênese e muito outros processos fisiológicos ou patológicos.^{51, 52, 53, 54}

Em mamíferos foram isoladas 16 isoenzimas de anidrase carbônicas distintas, com localização subcelular e distribuição tecidual muito diferente. Basicamente, existem as anidrases carbônicas citosólicas (CAI, CAII, CAIII, CAVII, CAVIII e CAXIII), as isoenzimas de membrana [CAIV, CAIX, CAXII, CAXIV e CAXV (que não é expressa em primatas)], as formas mitocondriais (CAVa e CAVb) e as formas secretadas (CAVI, X e XI).^{55, 56, 57}

A anidrase carbônica tipo III (CAIII) é uma isoenzima citosólica de 28 kDa localizada quase que exclusivamente no músculo esquelético^{58, 59}, onde é a principal proteína solúvel e está possivelmente envolvida na difusão de CO₂ no tecido. Esta enzima é liberada na circulação após lesão muscular.⁶⁰

Ohta M *et al* demonstraram que a concentração de anidrase carbônica tipo III aumentou no soro de pacientes com distrofia muscular de Duchenne. Em outras doenças neurológicas, como na atrofia muscular progressiva espinhal e na esclerose lateral amiotrófica, a CAIII mostrou-se um marcador mais sensível do que a CPK. Como a CAIII é principalmente encontrada nas fibras esqueléticas tipo I, esses resultados provavelmente refletem a anormalidade dessas fibras predominantemente observadas nessas doenças.⁶¹

Estudos demonstraram que a concentração sérica de CAIII aumenta após exercício, em indivíduos saudáveis, juntamente a outros marcadores de dano muscular como a mioglobina e a CPK,^{62, 63} porém não há aumento da concentração em pacientes com infarto do miocárdio.⁶⁴

Existem poucos estudos na literatura que mensuram a CKMB e a CAIII em pacientes tratados com estatinas.

2. OBJETIVO

Investigar se as concentrações séricas de CKMB e anidrase carbônica III, marcadores bioquímicos de dano muscular, estão alteradas em pacientes em tratamento com estatinas e com alteração da atividade enzimática da CPK e relacionar com a presença de miosite.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório de Análises Clínicas do Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP).

O protocolo foi aprovado na Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPESQ) sob o nº 1119/09.

3.1 Critérios de Inclusão

Pacientes maiores de 18 anos, em terapia com algum tipo de estatina e que apresentaram elevação da atividade enzimática da CPK em seus exames de rotina. Os pacientes consentiram a participação no estudo por meio da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) - Anexo I.

3.2 Critérios de Exclusão

Foram excluídos pacientes com insuficiência renal crônica (creatinina > 2,0 mg/dL), história de hipotireoidismo ou em tratamento com hormônio tireoideano, história de doença inflamatória e/ou infecciosa, pacientes com diagnóstico prévio de câncer ou em terapia com fibrato. Também foram excluídos pacientes que relataram a prática de exercícios físicos até três dias antes da coleta dos exames. Os pacientes passaram por uma entrevista (anexo II), na qual foram abordadas as seguintes características demográficas e clínicas: idade, sexo, peso, altura, prática de exercícios físicos, presença de diabetes, presença de doenças inflamatórias e/ou infecciosas, presença de dores musculares, tipo de estatina usada e dose diária.

As dores musculares relatadas pelos pacientes e que foram consideradas relevantes e associadas ao uso de estatinas foram: dores nos membros inferiores, rigidez, câimbras e fraqueza muscular.²⁰ Como todos os pacientes tinham elevação da atividade da CPK, esses sintomas musculares foram classificados como miosite.^{15, 16}

3.3 Análises Laboratoriais

Foram também analisadas as seguintes características laboratoriais: Colesterol total e frações do colesterol (HDL e LDL), triglicérides, asparato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), uréia, creatinina, glicose e proteína C reativa.

CPK: Quantificada por método cinético automatizado, utilizando o kit Flex[®] reagente em equipamento Dimension RXL, Siemens Healthcare (Newark, USA).

Coeficiente de variação intraensaio: 0,8%; coeficiente de variação total: 2,1%

Valores de referência:

- Masculino: 39 a 308U/L
- Feminino: 26 a 192U/L

Colesterol total, HDL colesterol e triglicérides: Dosados por método Colorimétrico enzimático, utilizando o kit Flex[®] reagente, equipamento Dimension RXL, Siemens Healthcare.

Valores de referência:

- Colesterol total: < 200 mg/dL
- HDL colesterol: >60 mg/dL
- Triglicérides: <150 mg/dL

LDL colesterol: Obtido pelo cálculo de Friedwald - [LDLcolesterol = CT - (HDLcolesterol + TG/5)]

Valor de referência:

- <100 mg/dL

AST (Aspartato aminotransferase): Determinada pelo método cinético automatizado. O método da aspartato aminotranferase é uma adaptação da metodologia recomendada pela International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). O ensaio foi realizado no equipamento Dimension RxL, Siemens Healthcare, utilizando kit da mesma marca.

Valor de referência:

- 15 a 37 U/L

ALT (Alanina aminotransferase): Determinada pelo método cinético automatizado. O método Dimension[®] ALTI é uma adaptação do procedimento de alanina aminotransferase recomendado pelo IFCC conforme descrito por Bergmeyer. O ensaio foi realizado no equipamento Dimension RxL, Siemens Healthcare Diagnostics, utilizando kit da mesma marca.

Valores de referência:

- Masculino: 16 a 63U/L
- Feminino: 14 a 59U/L

Uréia: Determinada por método enzimático automatizado. O ensaio foi realizado no equipamento Dimension RxL, Siemens Healthcare, utilizando kit da mesma marca.

Valor de referência:

- 15 a 39mg/dL

Creatinina: Quantificada por método colorimétrico, utilizando o equipamento Dimension RxL, Siemens Healthcare.

Valores de referência:

- Masculino: 0,70 a 1,30mg/dL
- Feminino: 0,55 a 1,02mg/dL

Glicose: Dosada por método enzimático automatizado, utilizando-se kit específico para o equipamento automatizado Dimension RXL, Siemens Healthcare.

Valor de referência:

- Normal: 70-99 mg/dL
- Inapropriada: 100-125 mg/dL
- Elevada: ≥ 126 mg/dL

Proteína C Reativa Ultra-sensível: Quantificada por meio de anticorpos monoclonais, pelo método de imunonefelometria em equipamento automatizado BN II Systems, utilizando o kit CARDIO PHASE[®] hs CRP (Siemens Healthcare Diagnostics Products, Marburg, Alemanha).

Valor de referência:

- 5,0 mg/dL

Foram realizadas as seguintes determinações adicionais para os pacientes selecionados do estudo: CKMB, troponina e anidrase carbônica tipo III.

CKMB: Determinada por meio de um imunoenensaio tipo sanduíche efetuado em duas etapas e que utiliza tecnologia quimioluminescente direta e quantidades constantes de dois anticorpos monoclonais. O ensaio foi realizado no equipamento Advia Centaur, Siemens Healthcare, utilizando kit da mesma marca.

Coeficiente de variação intraensaio: 2,55%; coeficiente de variação total: 3,91%

Valores de referência:

- Masculino: < 4,4 mg/dL (percentil 99%)
- Feminino: < 3,8 mg/dL (percentil 99%)

Troponina I: Determinada por meio de um imunoenensaio tipo sanduíche efetuado em três etapas, com tecnologia quimioluminescente direta e quantidades constantes de dois anticorpos monoclonais. É incluído um reagente auxiliar para reduzir a ligação não específica. O ensaio foi realizado no equipamento Advia Centaur, Siemens Healthcare, utilizando kit da mesma marca.

Coeficiente de variação intraensaio: 5,1%; coeficiente de variação total: 5,3%

Valor de referência:

- 0,04 mg/dL (percentil 99%)

O teste de troponina foi realizado com o objetivo de afastar o diagnóstico de dano miocárdico nos participantes do estudo, uma vez que, uma parte desses pacientes apresentaram valores aumentados de CKMB.

Anidrase Carbônica III: Determinada por enzima-imunoensaio, utilizando-se o kit comercial, marca Cloud-Clone Corp. (Houston, USA) e seguindo as recomendações do fabricante.

Coeficiente de variação intraensaio: 10%; coeficiente de variação inter ensaio: 12%.

3.4 Análise Estatística

O tamanho da amostra a ser estudada foi de 276 pacientes de acordo com os dados de frequência de CPK alterado em nossa população (0,12) e na literatura (0,05), e um poder de teste $\beta= 0,80$ e um poder $\alpha= 0,05$.

Foram considerados estatisticamente significantes os resultados cujos níveis descritivos (valores de p) foram inferiores a 0,05.

Todas as variáveis foram analisadas descritivamente. Para as variáveis contínuas, a análise foi feita através da observação dos valores mínimos e máximos e do cálculo de médias e desvios-padrão. Para as variáveis categóricas, calcularam-se as frequências absolutas e relativas. E os testes realizados foram:

- Teste t Student para amostras independentes, quando comparados dois grupos em relação a uma variável quantitativa e quando há uma distribuição normal;
- A distribuição normal para o teste t student foi verificada pelo método da análise da igualdade das variâncias (Folded F). Dependendo do resultado desta análise, utilizou-se o método Pooled (variâncias com $p \geq 0,05$) ou o método de Satterthwaite (variâncias com $p < 0,05$).
- Teste Qui-quadrado ou Exato de Fisher para variáveis categóricas;

Para a obtenção de fatores de predição para a presença de miosite, foi utilizada a análise multivariada pelo método de regressão logística. Como variáveis independentes foram selecionadas aquelas que eram consideradas como fator de risco para miosite relacionada ao uso de estatinas, como idade, sexo, índice de massa corpórea, medicação e os marcadores bioquímicos CPK, CKMB e AST. Após a seleção, as variáveis foram, então, avaliadas em conjunto pelo modelo da regressão logística com processo de seleção *stepwise*. As mesmas variáveis independentes foram consideradas quando o diabetes foi a variável dependente.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa SAS, versão 9.3 (SAS Institute Inc., 1989-1996, Cary, NC, USA).

4. RESULTADOS

Os pacientes participantes do estudo foram selecionados de 01 de fevereiro de 2009 a 31 de agosto de 2016. Os resultados de CPK foram avaliados em uma população composta por 6692 pacientes ambulatoriais que faziam uso de algum tipo de estatina. Dessa população, 6041 (90,3%) pacientes apresentaram valores de CPK até 1x o limite superior de normalidade (LSN), $109 \pm 48,8 \text{ U/L}$ e 651 (9,7%) apresentaram valores superiores a 1xLSN, $420,5 \pm 427 \text{ U/L}$, considerando as faixas de referência utilizadas para o sexo feminino 26-192U/L e o sexo masculino 39-308U/L.

Do total de pacientes com CPK alterada, 359 consentiram formalmente em participar do estudo. Desses pacientes, 46,8% (n=168) eram homens. O IMC da população foi de $28,9 \pm 5,4 \text{ kg/m}^2$. Em relação ao tipo de estatina, 47,6% (n=171) dos pacientes utilizavam a sinvastatina com dose média diária de $24,8 \pm 13,7 \text{ mg}$ e 52,4% (n=188) utilizavam a atorvastatina com dose média diária de $34,5 \pm 20,6 \text{ mg}$.

4.1 CPK

Os valores de CPK foram agrupados para valores maiores de 1 a 3 vezes o LSN (>1-3xLSN; n=339) e para valores maiores de 3xLSN (n=20). O valor de CPK para as faixas de 1-3xLSN e >3xLSN foram, respectivamente, $346,8 \pm 125,4 \text{ U/L}$ e $1427,3 \pm 1288,0 \text{ U/L}$ (p=0,001). As variáveis clínicas e laboratoriais para estes grupos encontram-se na Tabela 3. Observou-se maiores concentrações séricas de CKMB nos pacientes com valores de CPK >3xLSN comparados com os pacientes com valores de CPK de >1-3xLSN e foram, respectivamente, de $10,6 \pm 9,3 \text{ ng/mL}$ e $4,1 \pm 3,6 \text{ ng/mL}$ (p=0,004).

O mesmo pode ser observado com os resultados de AST ($54,8 \pm 23,1 \text{ U/L}$ vs $31,5 \pm 12,5 \text{ U/L}$; p=0,001) e ALT ($58,6 \pm 21,8 \text{ U/L}$ vs $44,7 \pm 20,2 \text{ U/L}$; p=0,004). Do total de 309 pacientes que tinham resultado de AST, 21,7% apresentaram valores superiores a 1 x LSN. Dos 318 pacientes que tinham resultado para ALT, 11,3% apresentaram valores superiores a 1 x LSN. As elevações das transaminases não ultrapassaram o aumento de 3 x LSN. A concentração sérica da anidrase carbônica tipo III nos pacientes com valores de CPK de >1-3x LSN foi de $208,2 \pm 89,6 \text{ pg/mL}$ e nos pacientes com valores de CPK >3xLSN foi de $209,0 \pm 90,5 \text{ pg/mL}$ (p=0,601).

Tabela 3: Variáveis clínicas e laboratoriais relacionadas aos níveis de CPK.

	n (total)	Total	n	CPK (>1-3x LSN)	n	CPK (>3x LSN)	p
Idade (anos)	359	61,6 ± 10,1	339	61,7 ± 10,3	20	59,7 ± 7,2	0,383
Sexo (%)	359	168 Homens (46,8) 191 Mulheres (53,2)	339	158 Homens (46,6) 181 Mulheres (53,4)	20	10 Homens (50) 10 Mulheres (50)	0,768
Índice de massa corpórea (Kg/m²)	359	28,9 ± 5,4	339	28,8 ± 4,9	20	30,1 ± 10,3	0,566
Miosite (%)	181	50,4	169	50,0	12	60,0	0,378
Diabetes (%)	159	44,3	149	44,0	10	50,0	0,605
Sinvastatina (mg/dia)	171	24,8 ± 13,7	162	25,0 ± 13,8	9	21,1 ± 11,7	0,408
Atorvastatina (mg/dia)	188	34,5 ± 20,6	177	34,5 ± 20,6	11	34,5 ± 20,2	0,997
CPK (U/L)	359	407,0 ± 405,6	339	346,8 ± 125,4	20	1427,3 ± 1288,0	0,001
CKMB (ng/mL)	359	4,1 ± 3,6	339	3,7 ± 2,5	20	10,6 ± 9,3	0,004
Anidrase Carbônica tipo III (pg/mL)	231	208,2 ± 89,6	217	209,0 ± 90,5	14	196 ± 76,8	0,601
Colesterol total (mg/dL)	355	181,2 ± 50,2	335	180,6 ± 49,9	20	191,7 ± 55,4	0,337
HDL colesterol (mg/dL)	355	45,9 ± 15,1	335	45,9 ± 14,7	20	46,6 ± 20,9	0,889
LDL colesterol (mg/dL)	354	107,1 ± 42,6	334	106,5 ± 42,5	20	117,8 ± 43,8	0,249
Triglicérides (mg/dL)	355	148,9 ± 174,6	335	149,2 ± 178,9	20	143,3 ± 76,7	0,767
Glicose (mg/dL)	341	121,0 ± 50,0	322	121,7 ± 51,0	19	110,0 ± 28,5	0,113
Uréia (mg/dL)	330	41,7 ± 15,8	310	41,5 ± 14,6	20	45,9 ± 29,4	0,506
Creatinina (mg/dL)	331	1,1 ± 0,3	311	1,10 ± 0,29	20	1,16 ± 0,41	0,545
AST (U/L)	308	32,9 ± 14,4	290	31,5 ± 12,5	18	54,8 ± 23,1	0,001
ALT (U/L)	317	45,6 ± 20,5	298	44,7 ± 20,2	19	58,6 ± 21,8	0,004
PCR (mg/dL)	349	3,9 ± 5,5	329	3,92 ± 5,43	20	4,4 ± 6,3	0,700
Troponina I (ng/mL)	359	0,01 ± 0,01	339	0,01 ± 0,01	20	0,02 ± 0,02	0,526

Valores expressos em média (± desvio padrão); CPK: creatinofosfoquinase; CKMB: isoenzima MB da creatinofosfoquinase HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; AST: asparato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; PCR: proteína C reativa;

Valores considerados para CPK 1-3x LSN: masculino: 309-924U/L; feminino: 193-476U/L; Valores considerados para CPK>3x LSN: sexo masculino: >925U/L; sexo feminino: >477U/L.

4.2 Miosite

A presença de miosite foi relatada por 181 pacientes (50,4%). As variáveis clínicas e laboratoriais dos pacientes com e sem miosite encontram-se na Tabela 4.

Os pacientes com miosite apresentaram IMC maior do que aqueles que não tinham sintomas musculares e os valores foram respectivamente, $29,5 \pm 5,6 \text{ Kg/m}^2$ e $28,2 \pm 5,1 \text{ Kg/m}^2$ ($p=0,021$).

Os valores de CKMB foram maiores nos pacientes com miosite, porém sem significância estatística ($4,4 \pm 4,0 \text{ ng/mL}$ vs $3,7 \pm 3,2 \text{ ng/mL}$; $p=0,064$). Os valores da anidrase carbônica foram semelhantes nos dois grupos ($211,3 \pm 93,4 \text{ pg/mL}$ vs $204,0 \pm 84,6 \text{ pg/mL}$; $p=0,549$).

Em relação ao tipo de estatina, 104 pacientes com miosite (57,5%) usavam a sinvastatina com dose média diária de $26,1 \pm 14,5 \text{ mg}$ enquanto 77 pacientes (42,5%) usavam a atorvastatina com dose diária média de $33,6 \pm 21,8 \text{ mg}$ ($p=0,0002$).

Tabela 4 - Variáveis clínicas e laboratoriais relacionadas à ausência ou presença de miosite.

	n	Ausência de miosite	n	Presença de miosite	p
Idade (anos)	178	61,9 ± 10,6	181	61,4 ± 9,6	0,624
Sexo (%)	178	86 Homens (48,3) 92 Mulheres (51,7)	181	82 Homens (45,3) 99 Mulheres (54,7)	0,568
Índice de massa corpórea (Kg/m²)	178	28,2 ± 5,1	181	29,5 ± 5,6	0,021
Diabetes (%)	80	44,9	79	44,0	0,841
Sinvastatina (mg/dia)	67	22,8 ± 12,2	104	26,1 ± 14,5	0,133
Atorvastatina (mg/dia)	111	35,1 ± 19,8	77	33,6 ± 21,8	0,624
CPK (U/L)	178	387,8 ± 228,1	181	426,0 ± 524,6	0,370
CKMB (ng/mL)	178	3,7 ± 3,2	181	4,4 ± 4,0	0,064
Anidrase Carbônica III (pg/mL)	131	211,3 ± 93,4	100	204,0 ± 84,6	0,549
Colesterol total (mg/dL)	177	182 ± 54,7	178	180,4 ± 45,5	0,762
HDL colesterol (mg/dL)	177	46,6 ± 14,8	178	45,3 ± 15,3	0,419
LDL colesterol (mg/dL)	177	109,0 ± 45,8	177	105,2 ± 39,2	0,394
Triglicérides (mg/dL)	177	145,5 ± 230,4	178	152,2 ± 90,6	0,716
Glicose (mg/dL)	174	124,3 ± 57,3	167	117,6 ± 41,1	0,213
Uréia (mg/dL)	172	42,1 ± 17,3	158	41,3 ± 14,1	0,667
Creatinina (mg/dL)	173	1,13 ± 0,30	158	1,07 ± 0,28	0,066
AST (U/L)	155	32,6 ± 13,4	153	33,2 ± 15,3	0,676
ALT (U/L)	161	44,3 ± 21,3	156	46,8 ± 19,7	0,277
PCR (mg/dL)	176	4,0 ± 6,2	173	3,9 ± 4,7	0,741
Troponina I (ng/mL)	177	0,01 ± 0,02	180	0,01 ± 0,02	0,664

Valores expressos em média (± desvio padrão); CPK: creatinofosfoquinase; CKMB: isoenzima MB da creatinofosfoquinase HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; PCR: proteína C reativa;

Presença de miosite: relato de sintomas musculares e aumento da CPK.

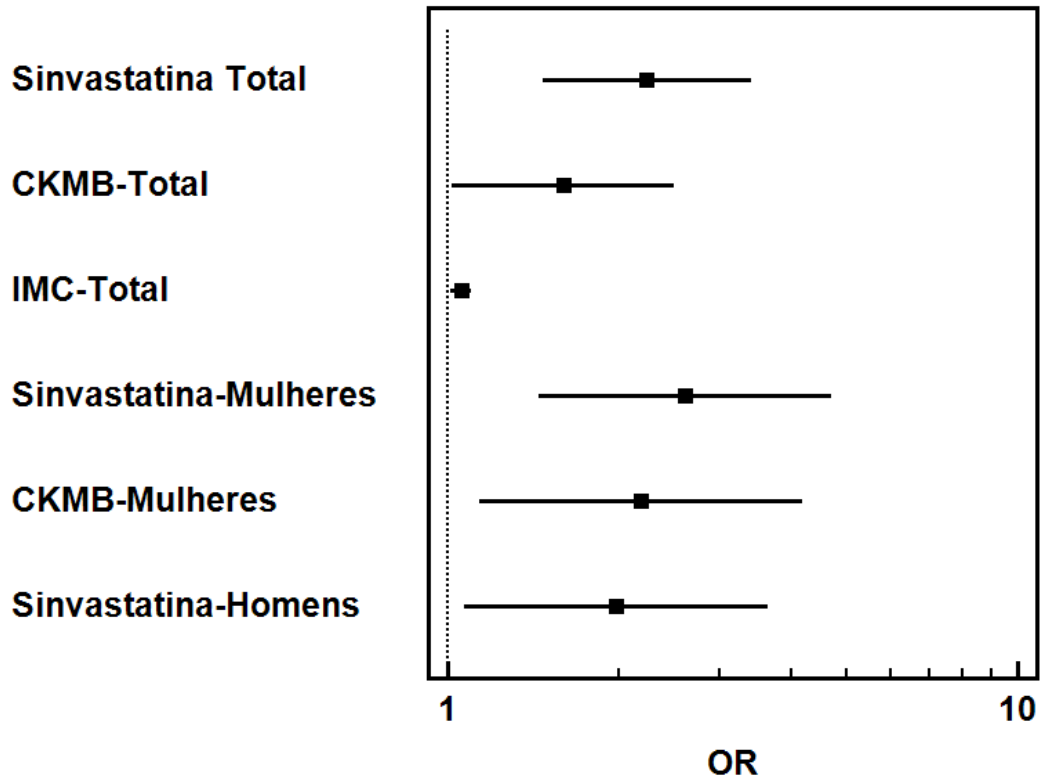
A análise de regressão logística multivariada usando a miosite como variável dependente foi ajustada para as variáveis: idade, sexo, IMC, medicação, CPK e CKMB. As variáveis independentes para miosite na população total foram a medicação (Sinvastatina/Atorvastatina) [OR=2,24 (IC95%:1,47-3,42)], a CKMB [OR=1,59 (IC95%: 1,02-2,49)] e o IMC [OR=1,06 (IC95%: 1,01-1,10)]. Quando a variável dependente é a presença de miosite em mulheres ajustada para as mesmas variáveis, as variáveis independentes são: a medicação (Sinvastatina/Atorvastatina) [OR=2,61 (IC 95%: 1,44-

4,71]] e a CKMB [OR=2,18 (IC95%: 1,14-4,18)]. Quando a variável dependente é a presença de miosite em homens ajustada para as mesmas variáveis, a variável dependente é a medicação (Sinvastatina/Atorvastatina) [OR=1,97 (IC95%: 1,07-3,65)]. O acréscimo da anidrase carbônica no modelo não alterou o resultado final das regressões logísticas acima. Todos os resultados estão representados na tabela 5 e figura 1:

Tabela 5: Análise de regressão logística para variável dependente “miosite” e independentes “idade, sexo, IMC, medicação [sinvastatina (0)/ atorvastatina (1)], AST, CPK e CKMB” para a população total, mulheres e homens.

Variável Dependente	Variáveis Independentes	OR	Low	High
Miosite (população total)	Medicação	2,24	1,47	3,42
	CKMB	1,59	1,01	2,49
	IMC	1,06	1,01	1,10
Miosite (mulheres)	Medicação	2,61	1,44	4,71
	CKMB	2,18	1,14	4,18
Miosite (homens)	Medicação	1,97	1,07	3,65

Figura 1:



4.3 Sexo

Quando as variáveis foram analisadas em relação ao sexo, observaram-se nos homens, valores maiores de CPK ($480,6 \pm 386,6$ U/L vs $342,3 \pm 411,8$ U/L; $p=0,001$), CKMB ($4,7 \pm 3,5$ ng/mL vs $3,5 \pm 3,6$ ng/mL; $p=0,003$), creatinina ($1,2 \pm 0,3$ mg/dL vs $1,0 \pm 0,3$ mg/dL; $p<,0001$), AST ($36,1 \pm 14,2$ U/L vs $30,2 \pm 14,1$ U/L; $p=0,0003$) e ALT ($50,0 \pm 17,8$ U/L vs $41,7 \pm 21,9$ U/L; $p=0,0002$). Nas mulheres observaram-se valores maiores no colesterol total ($192,6 \pm 50,5$ mg/dL vs $168,4 \pm 46,8$ mg/dL), HDL colesterol ($50,8 \pm 16,0$ mg/dL vs $40,4 \pm 11,7$ mg/dL; $p<,0001$), LDL colesterol ($114,7 \pm 44,4$ mg/dL vs $98,6 \pm 38,9$ mg/dL; $p=0,0004$) e proteína C reativa ($4,5 \pm 6,0$ mg/dL vs $3,33 \pm 4,7$ mg/dL; $p=0,048$).

As variáveis clínicas e laboratoriais relacionadas ao sexo dos pacientes encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6: Variáveis clínicas e laboratoriais relacionadas ao sexo dos pacientes:

	n	Homens	n	Mulheres	p
Idade (anos)	168	60,7 ± 10,7	191	62,4 ± 9,5	0,109
Índice de massa corpórea (Kg/m²)	168	28,7 ± 5,0	191	28,9 ± 5,7	0,667
Miosite (%)	82	48,8	99	51,8	0,568
Diabetes (%)	68	40,7	91	47,6	0,188
Sinvastatina (mg/dia)	88	23,2 ± 14,7	83	26,5 ± 12,3	0,111
Atorvastatina (mg/dia)	80	35,6 ± 22,0	108	33,7 ± 19,5	0,528
CPK (U/L)	168	480,6 ± 386,6	191	342,3 ± 411,8	0,001
CKMB (ng/mL)	168	4,7 ± 3,5	191	3,5 ± 3,6	0,003
Anidrase Carbônica III (pg/mL)	89	203,0 ± 89,5	142	211,4 ± 89,8	0,487
Colesterol total (mg/dL)	167	168,4 ± 46,8	188	192,6 ± 50,5	<,0001
HDL colesterol (mg/dL)	167	40,4 ± 11,7	188	50,8 ± 16,0	<,0001
LDL colesterol (mg/dL)	166	98,6 ± 38,9	188	114,7 ± 44,4	0,0004
Triglicérides (mg/dL)	167	164,0 ± 242,7	188	135,4 ± 71,2	0,145
Glicose (mg/dL)	158	117,0 ± 38,4	183	124,5 ± 58,1	0,154
Uréia (mg/dL)	155	40,7 ± 12,4	175	42,7 ± 18,3	0,248
Creatinina (mg/dL)	156	1,2 ± 0,3	175	1,0 ± 0,3	<,0001
AST (U/L)	140	36,1 ± 14,2	168	30,2 ± 14,1	0,0003
ALT (U/L)	146	50,0 ± 17,8	171	41,7 ± 21,9	0,0002
PCR (mg/dL)	160	3,33 ± 4,7	189	4,5 ± 6,0	0,048
Troponina I (ng/mL)	167	0,01 ± 0,01	190	0,01 ± 0,02	0,538

Valores expressos em média (± desvio padrão); CPK: creatinofosfoquinase; CKMB: isoenzima MB da creatinofosfoquinase HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; AST: asparato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; PCR: proteína C reativa.

4.4 CKMB

Os pacientes foram divididos de acordo com as concentrações séricas de CKMB massa em dois grupos: normal e alterado. As variáveis clínicas e laboratoriais relacionadas aos níveis de CKMB encontram-se na Tabela 7.

Os pacientes com valores normais de CKMB apresentaram concentrações séricas mais altas de anidrase carbônica ($220,7 \pm 90,4 \text{ pg/mL}$ vs $191,5 \pm 86,2 \text{ pg/mL}$; $p=0,014$).

Observaram-se valores aumentados de CKMB em pacientes mais idosos ($63,1 \pm 10,2$ anos vs $60,8 \pm 9,9$ anos; $p=0,037$), em homens em relação às mulheres ($53,8\%$ vs $46,2\%$; $p=0,043$) e na presença do diabetes ($53,9\%$ vs $39,1\%$; $p=0,007$). Os valores mais altos de CPK ($546,9 \pm 627,3 \text{ U/L}$ vs $327,6 \pm 134,7 \text{ U/L}$; $p < 0,0001$) e AST ($36,8 \pm 16,1 \text{ U/L}$ vs $30,7 \pm 12,9 \text{ U/L}$; $p=0,001$) foram observados em pacientes com valores de CKMB aumentada. Observou-se também uma tendência ($p=0,062$) de valores elevados de CKMB em pacientes com miosite, porém sem significância estatística.

CKMB aumentada foi observada em $36,2\%$ ($n=130$) dos pacientes. Para verificar se o aumento nesses pacientes seria decorrente de dano miocárdico, a troponina I foi analisada resultando em valores acima do percentil de 99 para 16 ($4,5\%$) pacientes.

Tabela 7: Variáveis clínicas e laboratoriais relacionadas aos níveis de CKMB.

	n	CKMB normal	n	CKMB alterado (>1 x LSN)	p
Idade (anos)	229	60,8 ± 9,9	130	63,1 ± 10,2	0,037
Sexo (%)	98 homens 131 mulheres	42,8 57,2	70 homens 60 mulheres	53,8 46,2	0,043
Índice de massa corpórea (Kg/m²)	229	28,9 ± 5,1	130	28,7 ± 5,8	0,625
Miosite (%)	108	46,8	73	57,0	0,062
Diabetes (%)	90	39,1	69	53,9	0,007
Sinvastatina (mg/dia)	110	25,6 ± 14,1	61	23,4 ± 12,9	0,337
Atorvastatina (mg/dia)	119	34,0 ± 20,1	69	35,4 ± 21,4	0,671
CKMB (ng/mL)	229	2,32 ± 0,9	130	7,17 ± 4,4	<,0001
CPK (U/L)	229	327,6 ± 134,7	130	546,9 ± 627,3	<,0001
Anidrase Carbônica tipo III (pg/mL)	132	220,7 ± 90,4	99	191,5 ± 86,2	0,014
Colesterol total (mg/dL)	225	183,3 ± 49,2	130	177,6 ± 51,9	0,302
HDL colesterol (mg/dL)	225	46,4 ± 15,9	130	45,2 ± 13,6	0,480
LDL colesterol (mg/dL)	224	108,6 ± 42,1	130	104,5 ± 43,5	0,385
Triglicérides (mg/dL)	225	151,9 ± 207,7	130	143,6 ± 93,7	0,605
Glicose (mg/dL)	217	120,3 ± 51,6	124	122,3 ± 47,4	0,723
Uréia (mg/dL)	213	41,3 ± 14,3	117	42,5 ± 18,4	0,524
Creatinina (mg/dL)	212	1,1 ± 0,3	119	1,1 ± 0,3	0,296
AST (U/L)	196	30,7 ± 12,9	112	36,8 ± 16,1	0,001
ALT (U/L)	202	44,7 ± 21,4	115	47,0 ± 18,9	0,338
PCR (mg/dL)	226	4,3 ± 5,8	123	3,4 ± 4,9	0,131
Troponina I (ng/mL)	227	0,010 ± 0,01	130	0,015 ± 0,02	0,024

Valores expressos em média (± desvio padrão); CPK: creatinofosfoquinase; CKMB: isoenzima MB da creatinofosfoquinase HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; AST: asparato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; PCR: proteína C reativa;

CKMB alterado: masculino - > 4,4ng/mL; feminino - >3,8ng/mL (percentil 99%).

4.5 Anidrase Carbônica III

A CAIII foi dosada para 231 pacientes. O resultado médio encontrado foi de 208,2 pg/mL±89,6 pg/mL. Os valores de CAIII não se correlacionaram com a CPK.

Os pacientes sem e com miosite apresentaram concentrações semelhantes de CAIII (211,3±93,4pg/mL vs 204,0±84,6pg/mL; p=0,549).

Os pacientes com valores normais de CKMB apresentaram concentrações mais altas de anidrase carbônica (220,7±90,4pg/mL vs 191,5±86,2pg/mL; p=0,014).

Não foram observados também correlações entre o tipo e a dose de estatina e as concentrações de CAIII.

4.6 Diabetes mellitus

Os pacientes do estudo foram classificados em diabéticos (n=159; 44,4%) e não diabéticos (n=199; 55,6%). As variáveis clínicas e laboratoriais foram analisadas nessas condições e estão apresentadas na Tabela 8. Os pacientes diabéticos eram mais velhos (62,9±9,2 anos vs 60,6±10,7 anos; p=0,025) e tinham o IMC maior (30,0±5,6 kg/m² vs 27,9±5,0 kg/m²; p=0,0002). Os diabéticos apresentaram também valores mais altos de CKMB (4,8±4,6ng/mL vs 3,5±2,4ng/mL; p=0,0006).

Tabela 8 - Variáveis clínicas e laboratoriais relacionadas à ausência ou presença de diabetes.

	n	Ausência de diabetes	n	Presença de diabetes	p
Idade (anos)	199	60,6±10,7	159	62,9±9,2	0,025
Sexo (%)	99 homens	49,7	68 homens	42,8	0,188
	100 mulheres	50,3	91 mulheres	57,2	
Índice de massa corpórea (Kg/m²)	199	27,9±5,0	159	30,0±5,6	0,0002
Miosite (%)	101	50,8	79	49,7	0,951
Sinvastatina (mg/dia)	103	23,7±14,3	68	26,6±12,7	0,177
Atorvastatina (mg/dia)	96	30,4±18,8	91	38,8±21,5	0,005
CPK (U/L)	199	399,8±348,2	159	416,6±469,6	0,707
CKMB (ng/mL)	199	3,5±2,4	159	4,8±4,6	0,0006
Anidrase Carbônica tipo III (pg/mL)	125	203,7±92,4	105	211,6±84,3	0,499
Colesterol total (mg/dL)	197	183,9±47,0	157	177,9±54,1	0,267
HDL colesterol (mg/dL)	197	47,4±15,4	157	44,1±14,6	0,041
LDL colesterol (mg/dL)	196	111,2±39,3	157	102,3±46,1	0,054
Triglicérides (mg/dL)	197	128,9±71,8	157	173,2±248,1	0,031
Glicose (mg/dL)	187	103,0±10,2	153	143,2±67,7	<,0001
Uréia (mg/dL)	184	39,7±13,0	145	44,3±18,6	0,012
Creatinina (mg/dL)	183	1,1±0,3	147	1,1±0,3	0,062
AST (U/L)	173	33,1±13,3	134	32,6±15,8	0,738
ALT (U/L)	180	44,5±18,9	136	46,9±22,5	0,322
PCR (mg/dL)	193	4,2±6,3	155	3,7±4,3	0,334
Troponina I (ng/mL)	199	0,01±0,01	157	0,01±0,02	0,063

Valores expressos em média (± desvio padrão); CPK: creatinofosfoquinase; CKMB: isoenzima MB da creatinofosfoquinase HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; AST: asparato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; PCR: proteína C reativa.

A regressão logística multivariada foi realizada usando a presença de diabetes como variável dependente e foi ajustada para as seguintes variáveis: idade, sexo, IMC, medicação, AST, CPK e CKMB. Na população total, as variáveis independentes foram idade [OR=1,03 (IC95%: 1,00-1,05)], CKMB [OR=1,92 (IC95%: 1,22-3,03)] e IMC [OR=1,10 (IC95%: 1,05-1,15)]. Quando a variável dependente é a presença de diabetes nas mulheres, as variáveis

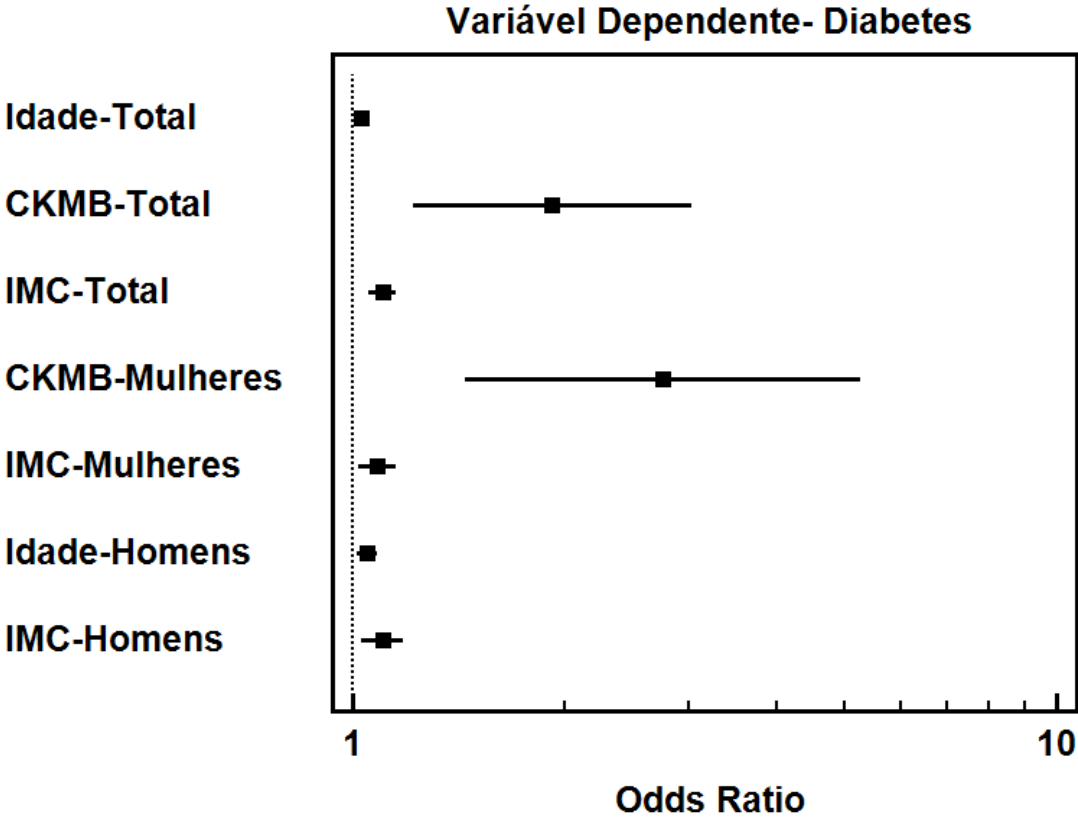
independentes são: CKMB [OR=2,76 (IC95%: 1,44-5,27)] e IMC [OR=1,09 (IC95%: 1,02-1,15)].

Quando a variável dependente é a presença de diabetes nos homens, as variáveis independentes são: idade [OR=1,05 (IC95%: 1,01-1,08)] e IMC [OR=1,10 (IC95%: 1,03-1,08)]. Nesta análise, o acréscimo da anidrase carbônica como variável independente não alterou o resultado final da regressão logística. Os resultados estão apresentados na Tabela 9 e figura 2:

Tabela 9: Análise de regressão logística para variável dependente “diabetes” e independentes “idade, sexo, IMC, medicação [sinvastatina (0) / atorvastatina (1)], AST, CPK e CKMB para a população total, mulheres e homens.

Variável Dependente	Variáveis Independentes	OR	IC95%	
Diabetes (população total)	Idade	1,03	1,01	1,05
	CKMB	1,92	1,22	3,03
	IMC	1,10	1,05	1,15
Diabetes (mulheres)	CKMB	2,76	1,44	5,27
	IMC	1,09	1,02	1,15
Diabetes (homens)	Idade	1,05	1,01	1,08
	IMC	1,10	1,03	1,18

Figura2:



5. DISCUSSÃO

5.1 CPK

O presente estudo levou em consideração qualquer elevação da CPK nos pacientes tratados com estatinas, independente da presença de sintomas musculares. Poucos estudos relatam frequência de anormalidades da CPK inferior a 10 x LSN.¹⁹

Participaram do estudo 6692 pacientes, tratados com estatinas. Dessa população 651 indivíduos (9,7%) apresentaram valores de CPK superiores a 1 x LSN. Esse resultado foi superior ao encontrado no estudo de Smith CC *et al*, onde apenas 0,3% dos pacientes monitorados, tiveram a elevação da CPK atribuída ao uso de estatina.⁶⁵

No estudo STOMP observou-se que o uso da atorvastatina produziu um aumento de $20,8 \pm 141,1$ U/L ($p < 0,0001$) nos níveis de CPK, embora nenhum paciente tenha demonstrado valor de CPK > 10 x LSN.⁶⁶ No presente estudo, apenas 2 pacientes, um homem e uma mulher, apresentaram valores de CPK superiores a 10 x LSN (4482U/L e 5556U/L respectivamente), porém sem evidência de rabdomiólise.

Os pacientes com valores de CPK superiores a 3 x LSN, apresentaram elevação significativa de CKMB, cuja concentração pode variar entre 1% a 7% da quantidade de CPK total por grama de tecido.⁴⁴⁻⁴⁶

Quanto às transaminases, 21,7% e 11,3% dos pacientes apresentaram resultados superiores a 1 x LSN para AST e ALT respectivamente. Neste estudo não houve elevações das transaminases superiores a 3 x LSN. Alguns ensaios clínicos indicam que apesar das estatinas serem seguras, os aumentos das transaminases acima dos limites normais ocorrem em cerca de 0 e 1% dos pacientes.^{7, 67, 68}

A anidrase carbônica tipo III (CAIII) não demonstrou diferença significativa entre os pacientes com valores de CPK $> 1-3$ x LSN e aqueles com valores superiores a 3 x LSN. Shima K, demonstrou em seu estudo que a CAIII foi clinicamente aplicável como um marcador de diagnóstico de doenças musculares e que refletia as anormalidades de fibra tipo I da musculatura esquelética de forma mais sensível que a CPK.⁶⁹

5.2 Miosite

Os sintomas musculares representam cerca de 40% dos efeitos colaterais relatados durante o tratamento com estatinas.² Porém a existência desses sintomas é subjetiva e dificulta a classificação e o diagnóstico.

Dos 359 pacientes do estudo que apresentavam valores de CPK superiores a 1 x LSN, 181 (50,4%) relataram a presença de algum sintoma muscular (fraqueza, dor muscular, rigidez ou câimbras). Este resultado foi superior aos resultados encontrados na literatura. O estudo observacional DAMA que incluiu 3.845 pacientes com sintomas musculares associados ao uso de estatinas, relatou a presença de mialgia em 78,2% dos pacientes e 19,3% deles tinham miosite, ou seja, a presença de sintomas musculares acompanhada de elevação da CPK.⁷⁰

El-Salem K *et al*, relatou um aumento na incidência de sintomas musculares em 21% dos pacientes tratados com estatinas.⁷¹ Outro estudo observou, após uma seleção dos pacientes participantes, que 10,2% deles apresentavam intolerância ao uso de estatinas com comprometimento muscular.⁷²

Nos ensaios clínicos a incidência de sintomas musculares (1-5% dos pacientes) relacionados ao tratamento com estatinas é menor que nos estudos observacionais. Normalmente a ocorrência desse efeito colateral é similar ao encontrado nos grupos tratados com placebo.^{73, 74, 75} Isto ocorre, provavelmente, pelo fato de que a população participante dos ensaios clínicos é bem selecionada. Esses estudos costumam excluir pacientes com insuficiência renal ou hepática, com intolerância às estatinas ou que utilizam alguma droga que possibilite o aumento do risco de toxicidade e pacientes com histórico de doença muscular. A pré-randomização desses estudos chega a excluir cerca de 30% dos possíveis participantes.^{76, 77}

Em nosso estudo, pacientes com miosite apresentaram um IMC maior do que aqueles que não relataram dor muscular. Diferentemente da literatura onde o IMC baixo é considerado um fator de risco para ocorrência de sintomas musculares relacionados ao uso de estatinas.^{15,20,39}

No presente estudo, a miosite ocorreu com mais frequência nos pacientes que utilizavam a sinvastatina (57,5%), com dose média diária de 26,1±14,5 mg, apesar da maior dose média diária usada para atorvastatina (33,6±21,8 mg).

O estudo STOMP, randomizou pacientes saudáveis para tratamento com 80mg de atorvastatina e placebo. Segundo a definição de mialgia utilizada no estudo 9,4% dos usuários de estatina desenvolveram sintomas musculares contra 4,6% dos pacientes tratados com placebo ($p=0,05$).⁶⁶

A análise multivariada mostrou a sinvastatina como um preditor independente para a ocorrência de miosite na população estudada. No estudo PRIMO, o tipo de estatina também foi considerado um preditor independente para o aparecimento de sintomas musculares. O tratamento com altas doses de sinvastatina (40 ou 80 mg/dia) e de atorvastatina (40 ou 80 mg/dia), foi associado ao aumento da ocorrência destes sintomas ($p<0,0001$ e $p=0,035$ respectivamente).²⁰

Os pacientes que relataram miosite apresentaram uma concentração de CKMB maior do que aqueles sem os sintomas musculares, porém sem significância estatística ($4,4\pm 4,0$ ng/mL vs $3,7\pm 3,2$ ng/mL; $p=0,064$).

A CKMB mostrou-se um preditor independente para a presença de miosite. Na literatura existem poucos estudos relacionando elevação de CKMB com a presença de miosite ou outros tipos de sintomas musculares e tratamento com estatinas. Porém alguns estudos relatam a elevação desta enzima na presença de doenças musculares crônicas, como a dermatomiosite e a polimiosite.^{47, 78, 79}

Um estudo em que os pacientes eram tratados com rosuvastatina (40mg) antes da realização de intervenção coronariana percutânea demonstrou que a elevação de CKMB foi mais frequente no grupo de pacientes tratados com a estatina quando comparada ao grupo tratado com placebo (67,1% vs 59,2%; $p=0,071$).⁸⁰

5.3 Sexo

Os homens apresentam atividade de CPK mais alta do que as mulheres.⁸¹ A diferença entre as massas musculares dos homens e mulheres parece ser responsável por essa diferença.⁸²

As mulheres apresentaram colesterol total, HDL colesterol e LDL colesterol mais altos do que os homens. Um estudo que verificou os níveis de colesterol total, LDL colesterol, HDL colesterol e triglicérides em pacientes idosos (≥ 65 anos) com e sem terapia hipolipemiante, demonstrou que as mulheres tinham valores de HDL colesterol significativamente mais altos do que os homens. Porém, os níveis de colesterol total, LDL colesterol e triglicérides tiveram resultados similares nos homens e nas mulheres.⁸³

Neste estudo, as mulheres também apresentaram níveis elevados de PCR quando comparado aos níveis apresentados pelos homens. Um estudo com pacientes de 30 a 65 anos e que comparou os níveis de PCR por gênero e raças, concluiu que mulheres e indivíduos negros apresentaram valores de PCR mais altos que homens e indivíduos brancos.⁸⁴

Outro estudo semelhante demonstrou que os níveis de PCR são 40% maiores nas mulheres. A diferença permanece mesmo após a estratificação por IMC e após levar em consideração outras possíveis variáveis de confusão, como a raça e o uso de medicamentos.⁸⁵

Pacientes tratados com estatinas tendem a apresentar uma redução de 60% nos níveis de PCR. Nesses casos, a redução da PCR é independente da diminuição nos níveis de LDL colesterol e é dependente do tipo de estatina utilizada.⁸⁶

A AST e a ALT apresentaram-se mais altas nos homens. Um resultado semelhante foi encontrado por Clark JM *et al*, que observou as transaminases de 15.000 indivíduos e concluiu que a elevação das transaminases foi prevalente nos homens quando comparado às mulheres.⁸⁷

Semelhantes às diferenças ligadas ao sexo nas transaminases, também se apresentam os resultados de CKMB. Um trabalho realizado em uma população formada por indivíduos aparentemente saudáveis demonstrou que os valores de CKMB apresentados foram significativamente maiores nos homens, sugerindo até um intervalo de referência distinto para ambos os sexos.⁸⁸ Outros trabalhos confirmam os dados encontrados neste estudo.^{89, 90}

5.4 CKMB

A musculatura esquelética contém a isoenzima CKMB em pequenas quantidades. Portanto, uma lesão muscular ou a presença de doença muscular crônica pode resultar em uma elevação desta enzima, mesmo na ausência de um dano cardíaco.⁹¹

No presente estudo, 36,2% dos pacientes apresentaram elevações de CKMB. Erlacher *et al*, demonstrou que 51% dos pacientes, todos com dermatomiosite ou polimiosite, apresentaram elevações da CKMB, sem evidências clínicas de dano miocárdico.⁹²

Dos pacientes com CKMB alterada, 7,7% apresentaram resultados de troponina I acima do percentil de 99% (0,043-0,168 ng/mL). Levando em consideração que a população do estudo foi formada por pacientes em seguimento ambulatorial e que o teste utilizado para determinação da troponina foi o contemporâneo, as elevações encontradas provavelmente tiveram origem em outras causas independentes de dano miocárdico. Valores aumentados de troponina (superiores ao percentil de 99%) podem ser detectados em muitas doenças, dentre elas, na insuficiência cardíaca, endocardite, desordens metabólicas, doenças do tecido conjuntivo e auto-imunes, rabdomiólise e em doenças neuromusculares e miopáticas.⁹³

Existem poucas referências na literatura que apresentem dados de determinação de CKMB em pacientes ambulatoriais.

Neste estudo, os pacientes com valores de CKMB mais altos também eram mais velhos. Um estudo em pacientes infartados que sofreram intervenção percutânea, demonstrou que os pacientes do grupo com CKMB alterada eram mais velhos (60,4±4,3 anos vs 51,6±8,4 anos; $p < 0,05$) do que os pacientes que apresentaram valores normais.⁹⁴ Zhang WZ, em um estudo observacional, dividiu a população estudada em 6 grupos de acordo com a idade. A CKMB aumentou significativamente entre os grupos etários, mostrando-se mais elevada nos pacientes mais velhos.⁹⁵

Outro estudo realizado com pacientes hospitalizados com fibrilação atrial mostrou que não houve diferença de idade significativa nos grupos de CKMB alterado e normal.⁹⁶

5.5 Anidrase Carbônica tipo III (CAIII)

A anidrase carbônica tipo III é uma isoenzima encontrada, quase que exclusivamente, no músculo esquelético.^{58,59} Normalmente apresenta-se aumentada após exercícios e em doenças neuromusculares.⁶¹⁻⁶³ Porém neste estudo os valores de CAIII não sofreram alterações significantes nos pacientes que apresentavam queixas musculares, embora todos eles tivessem níveis alterados de CPK.

Uma hipótese que pode explicar esse achado está embasada na possível propriedade inibitória das estatinas em relação às anidrases carbônicas.⁹⁷

O ácido beta-hidroxibutírico (BHB) é um corpo cetônico produzido durante a dieta cetogênica.⁹⁸ Nos seres humanos, o BHB é sintetizado no fígado a partir da acetil-Coenzima A e inibe várias isoformas das anidrases carbônicas. Esse fragmento está presente nas moléculas da maioria das estatinas. Por esse motivo as estatinas apresentam um padrão de inibição submicromolar das anidrases carbônicas.⁹⁷ Um estudo realizado com células de leucemia em cultura, demonstrou que o tratamento com lovastatina diminuiu significativamente a expressão de anidrase carbônica tipo II.⁹⁹

No presente estudo todos os pacientes estavam em tratamento com estatinas. O fato das estatinas inibirem a anidrase carbônica poderia explicar as concentrações semelhantes de anidrase obtidas na presença de CPK >1-3xLSN e CPK >3xLSN como também na presença e ausência de miosite.

Os pacientes com valores normais de CKMB apresentaram valores mais altos de anidrase carbônica tipo III. Não há relatos na literatura que explique esta condição. Portanto, novos estudos devem ser propostos com o objetivo de esclarecer essa relação.

5.6 Diabetes Mellitus

Os pacientes diabéticos em tratamento com estatina e que fizeram parte do estudo eram mais velhos ($62,9 \pm 9,2$ anos vs $60,6 \pm 10,7$ anos; $p=0,025$) e tinham um IMC maior ($30,0 \pm 5,6$ kg/m^2 vs $27,9 \pm 5,0$ kg/m^2 ; $p=0,0002$). Eles apresentaram triglicérides ($173,2 \pm 248,1$ mg/dL vs $128,9 \pm 71,8$ mg/dL; $p=0,031$) e ureia ($44,3 \pm 18,6$ mg/dL vs ; $39,7 \pm 13,0$ mg/dL; $p=0,012$) mais elevados e HDL colesterol mais baixo ($44,1 \pm 14,6$ mg/dL vs $47,4 \pm 15,4$ mg/dL; $p=0,041$) em relação aos pacientes não diabéticos. Dados compatíveis com as características clínicas da doença.¹⁰⁰

Os pacientes diabéticos utilizavam uma dose mais alta de atorvastatina em relação à dose utilizada pelos não diabéticos ($38,8 \pm 21,5$ mg/dia vs $30,4 \pm 18,8$ mg/dia). Segundo uma meta-análise que incluiu 5 estudos que comparavam o uso intenso de estatina (atorvastatina ou sinvastatina 80 mg/dia) com o uso moderado (pravastatina 40 mg/dia, sinvastatina 10 ou 40 mg/dia e atorvastatina 10mg) em 32.752 pacientes, apenas 4,4% e 4,0% dos pacientes respectivamente desenvolveram diabetes.¹⁰

Os pacientes diabéticos apresentaram valores mais elevados de CKMB do que os pacientes não diabéticos ($4,8 \pm 4,6$ ng/mL vs $3,5 \pm 2,4$ ng/mL; $p=0,0006$), diferentemente do que foi encontrado por Lexis CP *et al*, que relacionou o uso crônico de hipoglicemiantes, especialmente a metformina, com níveis baixos de CKMB, CPK e troponina I.¹⁰¹ Outro estudo, demonstrou que a medida que o nível glicêmico foi reduzido com insulina e metformina, a CKMB também apresentou uma redução significativa, indicando que o controle glicêmico adequado tem um efeito protetor sobre o miocárdio.¹⁰² Apesar dos pacientes deste estudo fazerem uso de hipoglicemiantes orais e alguns usarem insulina, os resultados de glicose foram compatíveis com a presença do diabetes (≥ 126 mg/dL).¹⁰³ Eles apresentaram uma média de concentração de glicose de $143,2 \pm 67,7$ mg/dL, significativamente maior que a média de resultados dos pacientes não diabéticos, $103,0 \pm 10,2$ mg/dL ($p < 0,0001$).

Em pacientes com a diabetes já estabelecida, o uso de estatinas pode prejudicar o controle glicêmico, independente do uso da medicação hipoglicemiante. Um estudo de coorte dos Estados Unidos com pacientes com e sem diabetes, mostrou que o uso de sinvastatina foi associado a um nível 29% mais elevado de hemoglobina glicada. Nos pacientes com

diabetes pré-existent o nível da hemoglobina glicada foi 21% maior nos usuários de estatinas.¹⁰⁴

Outro estudo demonstrou que o tratamento com 20 mg/dia de atorvastatina por 12 semanas aumentou significativamente a glicemia de jejum de pacientes com diabetes e dislipidemia associados.¹⁰⁵

Os pacientes diabéticos foram assim classificados a partir de informações fornecidas pelos próprios pacientes e pela análise dos medicamentos utilizados por eles (informação obtida via prontuário eletrônico). Este estudo não levantou evidências de que o início da terapia com estatinas tivesse deflagrado o início do diabetes.

Na análise multivariada, a idade, o IMC e a CKMB emergiram como preditores independentes de diabetes. A idade e o IMC são variáveis conhecidas, fortemente associadas ao diabetes¹⁰⁰, mas a alta concentração sérica de CK-MB em pacientes diabéticos parece indicar o papel desta enzima como marcador de miopatia diabética. Alguns estudos indicam que o diabetes altera significativamente o metabolismo normal dos músculos esqueléticos, reduzindo o crescimento e a capacidade reparadora do músculo concomitante com o desenvolvimento da doença.^{106, 107} Estes resultados destacam a necessidade de investigações mais aprofundadas sobre o impacto de altas concentrações séricas de CKMB em pacientes diabéticos que tomam estatinas.

6. CONCLUSÕES

- Não houve diferenças na concentração da anidrase carbônica tipo III entre os pacientes com e sem miosite.
- Houve aumento de CKMB em 36% dos pacientes sugerindo a presença de dano muscular crônico.
- A CKMB aumentada mostrou-se um preditor independente para a presença de miosite.
- Estudos de seguimento de longo prazo serão necessários para determinar o impacto do aumento da CKMB em pacientes tratados com estatinas.

Anexo I: TCLE

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1.NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº

APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

2.RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M F

DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO: Nº

APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD

(.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA “MARCADORES BIOQUÍMICOS DE DANO MUSCULAR EM PACIENTES TRATADOS COM ESTATINAS”

PESQUISADOR: DR. ANTÔNIO DE PÁDUA MANSUR

CARGO/FUNÇÃO: MÉDICO ASSISTENTE INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL 40212

UNIDADE DO HCFMUSP: LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS DO INSTITUTO DO CORAÇÃO

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO RISCO MÉDIO
RISCO BAIXO X RISCO MAIOR

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 24 MESES

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

1 – Desenho do estudo e objetivo(s) “essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que visa.....”; ou “o objetivo deste estudo é.....”;

As estatinas são medicamentos usados para reduzir o colesterol (um tipo de gordura) no sangue dos pacientes. Com isso, esse medicamento ajuda a prevenir doenças no coração e o endurecimento das artérias, condição que pode resultar em um infarto, derrame ou doença vascular. Em alguns casos as estatinas podem causar uma lesão no músculo esquelético, aumentando uma enzima muscular. Nesses casos o paciente pode sentir dor ou fraqueza muscular. O aumento dessa enzima leva ao aumento de uma enzima cardíaca, podendo ocasionar um diagnóstico equivocado de infarto do miocárdio em um atendimento de emergência.

2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros;

Será realizada uma entrevista por telefone com os pacientes ambulatoriais que apresentarem alteração na enzima CK total em seu exame de rotina.

3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados – coleta de sangue por punção periférica da veia do antebraço; exames radiológicos;

Será utilizada uma parte do sangue coletado durante a visita de rotina dos pacientes para realização de exames complementares.

4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3;

No exame de sangue somente será sentida a picada para a coleta.

5 – Benefícios para o participante (Por exemplo: Não há benefício direto para o participante... Trata-se de estudo experimental testando a hipótese de que..... Somente no final do estudo poderemos concluir a presença de algum benefício...;

Esse estudo oferece a oportunidade de se relacionar o uso de estatinas ao aumento de CK total.

6 – Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar;

Esse estudo não necessita de procedimentos alternativos.

7 – Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr. Antônio de Pádua Mansur que pode ser encontrado no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44 bloco 2 – andar AB Unidade Clínica de Coronariopatia Crônica. Telefone(s) 3069-5387. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

8 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

09 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;

10 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

11 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

12 - Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

O sangue estocado será utilizado exclusivamente para as análises contempladas neste estudo.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "Importância do aumento dos níveis séricos de CK total nos pacientes em uso de estatinas."

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

Eu discuti com o Dr. Antônio de Pádua Mansur sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data / /

Assinatura da testemunha

Data / /

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data / /

Anexo II: Entrevista

PROTOCOLO CPK

Data da Entrevista

Contato:

Data e número de coleta:

Nome:

Iniciais:

Data de Nascimento:

Registro:

Idade:

Altura:

Peso:

Atividade Física:

Doenças Significativas:

Diabetes:

Medicamentos:

Tipo:

Dose:

Duração:

CPK:

CKMB Massa:

Troponina:

Evolução da doença

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 Grundy SM. HMG-CoA reductase inhibitors for treatment of hypercholesterolemia. *N Engl J Med.* 1988; 319:24–33.

2 Law M, Rudnicka AR. Statin safety: a systematic review. *Am J Cardiol.* 2006;97:52C–60C.

3 Mitka M. Expanding statin use to help more at-risk patients is causing financial heartburn. *JAMA.* 2003;290(17):2243-2245.

4 Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, MacFarlane PW, McKillop JH, Packard CJ. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med.* 1995;333:1301-1307.

5 Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994;344:1383-1389.

6 Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, Rouleau JL, Rutherford JD, Cole TG, Brown L, Warnica JW, Arnold JM, Wun CC, Davis BR, Braunwald E. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators. *N Engl J Med.* 1996;335:1001-1009.

7 Downs JR, Clearfield M, Weis S, Whitney E, Shapiro DR, Beere PA, Langendorfer A, Stein EA, Kruyer W, Gotto AM Jr. 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(20):1615-1622.

8 Mancini GB, Baker S, Bergeron J, Fitchett D, Frohlich J, Genest J, Gupta M, Hegele RA, Ng D, Pearson GJ, Pope J, Tashakkor AY. Diagnosis, Prevention, and Management

of Statin Adverse Effects and Intolerance: Canadian Consensus Working Group Update (2016). *Can J Cardiol.* 2016 Jul;32(7 Suppl):S35-65.

9 Richardson K, Schen M, French B, Umscheid CA, Mitchell MD, Arnold SE, Heidenreich PA, Rader DJ, de Goma EM. Statin and cognitive function: a systematic review. *Ann Intern Med.* 2013;159:688-697.

10 Preiss D, Seshasai SR, Welsh P, Murphy SA, Ho JE, Waters DD, DeMicco DA, Barter P, Cannon CP, Sabatine MS, Braunwald E, Kastelein JJ, de Lemos JA, Blazing MA, Pedersen TR, Tikkanen MJ, Sattar N, Ray KK. Risk of incident diabetes with intensive-dose compared with moderate-dose statin therapy: a meta-analysis. *JAMA.* 2011;305:2556-2564.

11 Ridker PM, Pradhan A, MacFadyen JG, Libby P, Glynn RJ. Cardiovascular benefits and diabetes risks of statin therapy in primary prevention: an analysis from the JUPITER trial. *Lancet.* 2012;380:565-571.

12 Waters DD, Ho JE, DeMicco DA, Breazna A, Arsenault BJ, Wun CC, Kastelein JJ, Colhoun H, Barter P. Predictors of new-onset diabetes in patients treated with atorvastatin: results from 3 large randomized clinical trials. *J Am Coll Cardiol.* 2011;57:1535-1545.

13 Mckenney JM, Davidson MH, Jacobson TA, Guyton JR. Final conclusions and recommendations of the National Lipid Association Statin Safety Assessment Task Force. *Am J Cardiol.* 2006 Apr 17;97(8A):89C-94C.

14 Shannon JA, John S, Parihar HS, Allen SN, Ferrara JJ. A Clinical Review of Statin-Associated Myopathy. *J Pharm Technol.* 2013;29(5):219-230.

15 Pasternak RC, Smith SC Jr, Bairey-Merz CN, Grundy SM, Cleeman JI, Lenfant C; American College of Cardiology; American Heart Association; National Heart, Lung and Blood Institute. ACC/AHA/NHLBI Clinical Advisory on the Use and Safety of Statins. *Circulation*. 2002 Aug 20;106(8):1024-1028.

16 Mancini GB, Tashakkor AY, Baker S, et al. Diagnosis, prevention, and management of statin adverse effects and intolerance: Canadian Working Group Consensus update. *Can J Cardiol* 2013;29: 1553–1568.

17 Rosenson RS, Baker SK, Jacobson TA, Kopecky SL, Parker BA, The National Lipid Association's Muscle Safety Expert Panel. An Assessment by the Statin Muscle Safety Task Force: 2014 update. *J Clin Lipidol*. 2014 May-Jun;8(3 Suppl):S58-71.

18 Thompson PD, Panza G, Zaleski A, Taylor B. Statin-Associated Side Effects. *J Am Coll Cardiol*. 2016 May 24;67(20):2395-2410.

19 Thompson PD, Clarkson P, Karas RH. Statin-associated myopathy. *JAMA*. 2003; 289(13):1681-1690.

20 Bruckert E, Hauyem G, Dejager S, Yau C, Begand B. Mild to moderate muscular symptoms with high-dosage statin therapy in hyperlipidemic patients - the PRIMO study. *Cardiovascular Drugs Ther*. 2005; 19(6):403-414.

21 Sinzinger H, Wolfram R, Peskar BA. Muscular side effects of statins. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2002;40(2):163-171.

22 Kashani A, Phillips CO, Foody JM, Wang Y, Mangalmurti S, Ko DT, Krumholz HM. Risks associated with statin therapy: a systematic overview of randomized clinical trials. *Circulation*. 2006; Dec 19;114(25):2788-2797.

23 Naci H, Brughts J, Ades T. Comparative tolerability and harms of individual statins: a study-level network meta-analysis of 246 955 participants from 135 randomized, controlled trials. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2013 Jul;6(4):390-399.

24 Cohen JD, Brinton EA, Ito MK, Jacobson TA. Understanding Statin Use in America and Gaps in Patient Education (USAGE): an internet-based survey of 10,138 current and former statin users. *J. Clin Lipidol* 2012;6:208-215.

25 Nichols GA, Koro CE. Does statin therapy initiation increase the risk for myopathy? An observational study of 32,225 diabetic and nondiabetic patients. *Clin Ther*. 2007;29:1761-1770.

26 Hodel C. Myopathy and rhabdomyolysis with lipid-lowering drugs. *Toxicol Lett*. 2002;128:159–168.

27 Nakahara K, Kuriyama M, Yoshidome H, Nagata K, Nagado T, Nakagawa M, Arimura K, Higuchi I, Osame M. Experimental simvastatin-induced myopathy in rabbits. *J Neurol Sci*. 1992;113:114-117.

28 Harper CR, Jacobson TA. Evidence-based management of statin myopathy. *Curr Atheroscler Rep*. 2010;12:322-330.

29 Marcoff L, Thompson PD. The role of coenzyme Q10 in statin-associated myopathy: a systematic review. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49(23):2231–2237.

30 Baer AN, Wortmann RL. Myotoxicity associated with lipid-lowering drugs. *Curr Opin Rheumatol*. 2007 Jan;19(1):67–73.

31 Abd TT, Jacobson TA. Statin-induced myopathy: a review and update. *Expert Opin Drug Saf*. 2011;10:373-387.

32 Dirks AJ, Jones KM. Statin-induced apoptosis and skeletal myopathy. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2006 Dec;291(6).

33 Guijarro C, Blanco-Colio LM, Ortego M, Alonso C, Ortiz A, Plaza JJ, Díaz C, Hernández G, Egido J. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase and isoprenylation inhibitors induce apoptosis of vascular smooth muscle cells in culture. *Circ Res.* 1998 Sep 7;83(5):490-500.

34 Bowser DN, Minamikawa T, Nagley P, Williams DA. Role of mitochondria in calcium regulation of spontaneously contracting cardiac muscle cells. *Biophys J.* 1998;75:2004-2014.

35 Sirvent P, Mercier J, Vassort G, Lacampagne A. Simvastatin triggers mitochondria-induced Ca²⁺ signaling alteration in skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005 Apr 15;329(3):1067-1075.

36 Sirvent P, Fabre O, Bordenave S, Hillaire-Buys D, Raynaud De Mauverger E, Lacampagne A, Mercier J. Muscle mitochondrial metabolism and calcium signaling impairment in patients treated with statins. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012 Mar 1;259(2):263-268.

37 SEARCH Collaborative Group, Link E, Parish S, Armitage J, Bowman L, Heath S, Matsuda F, Gut I, Lathrop M, Collins R. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy--a genomewide study. *N Engl J Med.* 2008 Aug 21;359(8):789-799.

38 Mastaglia FL1. Iatrogenic myopathies. *Curr Opin Neurol.* 2010 Oct;23(5):445-449.

39 Mancini GB, Baker S, Bergeron J, Fitchett D, Frohlich J, Genest J, Gupta M, Hegele RA, Ng D, Pope J. Diagnosis, prevention, and management of statin adverse effects and intolerance: proceedings of a Canadian Working Group Consensus Conference. *Can J Cardiol*. 2011 Sep-Oct;27(5):635-662.

40 Alfirevic A, Neely D, Armitage J, Chinoy H, Cooper RG, Laaksonen R, Carr DF, Bloch KM, Fahy J, Hanson A, Yue QY, Wadelius M, Maitland-van Der Zee AH, Voora D, Psaty BM, Palmer CN, Pirmohamed M. Phenotype standardization for statin-induced myotoxicity. *Clin Pharmacol Ther*. 2014 Oct;96(4):470-476.

41 Elhayany A, Mishaal RA, Vinker S. Is there clinical benefit to routine enzyme testing of patients on statins? *Expert Opin Drug Saf*. 2012 Mar;11(2):185-190.

42 Wu AH1, Perryman MB. Clinical applications of muscle enzymes and proteins. *Curr Opin Rheumatol*. 1992 Dec;4(6):815-820.

43 Christenson RH, Azzazy HM. Biochemical markers of the acute coronary syndromes. *Clin Chem*. 1998;44 (8 Pt2):1855-1864.

44 Apple FS. Tissue specificity of cardiac troponin I, cardiac troponin T and creatine kinase-MB. *Clin Chim Acta*. 1999;284:151-159.

45 Siegel AJ, Silverman LM, Evans WJ. Elevates skeletal muscle creatine kinase MB isoenzyme levels in marathon runners. *JAMA*. 1983;250:2835-2837.

46 Fredericks S, Merton GK, Lerena MJ, Heining P, Carter ND, Holt DW. Cardiac troponins and creatine kinase content of striated muscle in common laboratory animals. *Clin Chim Acta*. 2001;304:65-74.

47 Arenas J, Diaz V, Liras G, Gutierrez E, Santos I, Martinez A, Culebras JM. Activities of creatine kinase and its isoenzymes in various skeletal muscle disorders. *Clin Chem.* 1988;34:2460-2462.

48 Kiely PD, Bruckner FE, Nisbet JA, Dagher A. Serum skeletal troponin I in a inflammatory muscle disease: relation to creatine kinase, CKMB and cardiac troponin I. *Ann Rheum Dis.* 2000;59:750-751.

49 Ricchiuti V, Voss EM, Ney A, Odland M, Apple FS. Skeletal muscle expression of creatine kinase-B in end-stage renal disease. *Clinical Proteomics.* 2004;1:33-39.

50 Supuran CT. Structure-based drug discovery of carbonic anhydrase inhibitors. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2012;27:759-772.

51 Supuran CT. Carbonic anhydrases: novel therapeutic applications for inhibitors and activators. *Nat Rev Drug Discov.* 2008 Feb;7(2):168-181.

52 Smith KS, Jakubzick C, Whittam TS, Ferry JG. Carbonic anhydrase is an ancient enzyme widespread in prokaryotes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999 Dec 21;96(26):15184-15189.

53 Neri D, Supuran CT. Interfering with pH regulation in tumours as a therapeutic strategy. *Nat Rev Drug Discov.* 2011 Sep 16;10(10):767-777.

54 Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* 2010 Jun 15;20(12):3467-3474.

55 Jayashree Pichake, Prashant S. Kharkar, Mariangela Ceruso, Claudiu T. Supuran, Mrunmayee P. Toraskar. Carbonic Anhydrase Inhibitors: Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel Sulfonyl Semicarbazide Derivatives. *ACS Med Chem Lett.* 2014 Jul 10; 5(7): 793–796.

56 Supuran CT, Scozzafava A, Casini A. Carbonic anhydrase inhibitors. *Med Res Rev.* 2003 Mar;23(2):146-89.

57 Supuran CT, Scozzafava A. Carbonic anhydrases as targets for medicinal chemistry. *Bioorg Med Chem.* 2007 Jul 1;15(13):4336-4350.

58 Sly WS, Hu PY. Human carbonic anhydrases and carbonic anhydrase deficiencies. *Annu Rev Biochem.* 1995;64:375-401.

59 Kato K, Mokuno K. Distribution of immunoreactive carbonic anhydrase III in various human tissues determined by a sensitive enzyme immunoassay method. *Clin Chim Acta.* 1984 Aug 31;141(2-3):169-177.

60 Beuerle JR, Azzazy HM, Styba G, Duh SH, Christenson RH. Characteristics of myoglobin, carbonic anhydrase III and the myoglobin/carbonic anhydrase III ratio in trauma, exercise, and myocardial infarction patients. *Clin Chim Acta.* 2000;294(1-2):115-128.

61 Ohta M, Itagaki Y, Itoh N, Hayashi K, Nishitani H, Ohta K. Carbonic anhydrase III in serum in muscular dystrophy and other neurological disorders: relationship with creatine kinase. *Clin Chem.* 1991 Jan;37(1):36-39.

62 Väänänen HK, Leppilampi M, Vuori J, Takala TE. Liberation of muscle carbonic anhydrase into serum during extensive exercise. *J Appl Physiol* (1985). 1986 Aug;61(2):561-564.

63 Osterman PO, Askmark H, Wistrand PJ. Serum carbonic anhydrase III in neuromuscular disorders and in healthy persons after a long-distance run. *J Neurol Sci.* 1985 Oct;70(3):347-357.

64 Väänänen HK, Syrjälä H, Rahkila P, Vuori J, Melamies LM, Myllylä V, Takala TE. Serum carbonic anhydrase III and myoglobin concentrations in acute myocardial infarction. *Clin Chem.* 1990; 36(4):635-638.

65 Smith CC, Bernstein LI, Davis RB, Rind DM, Shmerling RH. Screening for statin-related toxicity: the yield of transaminase and creatine kinase measurements in a primary care setting. *Arch Intern Med.* 2003 Mar 24;163(6):688-692.

66 Parker BA, Capizzi JA, Grimaldi AS, Clarkson PM, Cole SM, Keadle J, Chipkin S, Pescatello LS, Simpson K, White CM, Thompson PD. Effect of statins on skeletal muscle function. *Circulation.* 2013 Jan 1;127(1):96-103.

67 Black DM, Bakker-Arkema RG, Nawrocki JW. An overview of the clinical safety profile of atorvastatin (lipitor), a new HMG-CoA reductase inhibitor. *Arch Intern Med.* 1998 Mar 23;158(6):577-584.

68 de Denu S, Spinler S, Miller K, Peterson A. Statins and liver toxicity: a meta-analysis. *Pharmacotherapy.* 2004;24:584-91.

69 Shima K. Human muscle carbonic anhydrase III (CA-III). Purification, immunohistochemical localization in the human skeletal muscle and its clinical application to neuromuscular disease. *Hokkaido Igaku Zasshi.* 1984 Mar;59(2):98-116.

70 Millán J, Pedro-Botet J, Climent E, Millán J, Rius J. Statin associated myopathy in clinical practice. Results of DAMA study. *Clin Investig Arterioscler*. 2017 Jan - Feb;29(1):7-12.

71 El-Salem K, Ababneh B, Rudnicki S, Malkawi A, Alrefai A, Khader Y, Saadeh R, Saydam M. Prevalence and risk factors of muscle complications secondary to statins. *Muscle Nerve*. 2011 Dec;44(6):877-878.

72 Fung EC, Crook MA. Statin myopathy: a lipid clinic experience on the tolerability of statinrechallenge. *Cardiovasc Ther*. 2012 Oct;30(5):e212-218.

73 Shepherd J, Blauw GJ, Murphy MB, Bollen EL, Buckley BM, Cobbe SM, Ford I, Gaw A, Hyland M, Jukema JW, Kamper AM, Macfarlane PW, Meinders AE, Norrie J, Packard CJ, Perry IJ, Stott DJ, Sweeney BJ, Twomey C, Westendorp RG; PROSPER study group. PROSpective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk. Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2002 Nov 23;360(9346):1623-1630.

74 Sever PS, Dahlöf B, Poulter NR, Wedel H, Beevers G, Caulfield M, Collins R, Kjeldsen SE, Kristinsson A, McInnes GT, Mehlsen J, Nieminen M, O'Brien E, Ostergren J; ASCOT investigators.

Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial--Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet*. 2003 Apr 5;361(9364):1149-1158.

75 MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2002;360:7-22.

76 Collins R, Armitage J, Parish S, Sleight P, Peto R; Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol-lowering with simvastatin in 5963 people with diabetes: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2003;361:2005–2016.

77 LaRosa JC, Grundy SM, Waters DD, Shear C, Barter P, Fruchart JC, Gotto AM, Greten H, Kastelein JJ, Shepherd J, Wenger NK; Treating to New Targets (TNT) Investigators. Intensive lipid lowering with atorvastatin in patients with stable coronary disease. *N Engl J Med* 2005;352:1425–1435.

78 Keshgegian AA. Serum creatine kinase MB isoenzyme in chronic muscle disease. *Clin Chem*. 1984;30:575–578.

79 Bittenbring JT, Chen CH, Fries P, Böhm M, Kilter H. Typical laboratory constellation of a non-ST-segment elevation myocardial infarction in polymyositis. *Dtsch Med Wochenschr*. 2010 Dec;135(49):2456-2458.

80 Martins KB, Mattos LA, Sousa AG, Sousa JE, Abzaid A, Feres F, de Ribamar JC Jr, Staico R, Costa RA, Chaves AJ. A Randomized Trial of Creatine-kinase Leak After Rosuvastatin in Elective Percutaneous Coronary Intervention (CLEAR-PCI). *J Interv Cardiol*. 2015 Aug;28(4):339-347.

81 Shumate JB, Brooke MH, Carroll JE, Davis JE. Increased serum creatine kinase after exercise: A sex-linked phenomenon. *Neurology*. 1979;29:902-904.

82 Rogers MA, Stull GA, Apple FS. Creatine kinase isoenzyme activities in men and women following a marathon race. *MedSciSports Exerc*. 1985;17:679-682.

83 Musha H, Hayashi A, Kida K, Takahashi E, Suzuki K, Kawasaki K, Inoue K, Akashi Y, Tsuchiya K, Yamauchi M, Kunishima T, Hashimoto N. Gender difference in the level of high-density lipoprotein cholesterol in elderly Japanese patients with coronary artery disease. *Intern Med*. 2006;45(5):241-245.

84 Khera A, McGuire DK, Murphy SA, Stanek HG, Das SR, Vongpatanasin W, Wians FH Jr, Grundy SM, de Lemos JA. Race and gender differences in C-reactive protein levels. *J Am Coll Cardiol*. 2005 Aug 2;46(3):464-469.

85 Lakoski SG, Cushman M, Criqui M, Rundek T, Blumenthal RS, D'Agostino RB Jr, Herrington DM. Gender and C-reactive protein: data from the Multiethnic Study of Atherosclerosis (MESA) cohort. *Am Heart J*. 2006 Sep;152(3):593-598.

86 Asher J, Houston M. Statins and C-reactive protein levels. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2007 Aug;9(8):622-628.

87 Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. *Am J Gastroenterol*. 2003 May;98(5):960-967.

88 Strunz CM, Araki LM, Nogueira AA, Mansur AP. Gender differences in serum CK-MB mass levels in healthy Brazilian subjects. *Braz J Med Biol Res*. 2011 Mar;44(3):236-239.

89 Apple FS, Quist HE, Doyle PJ, Otto AP, Murakami MM. Plasma 99th percentile reference limits for cardiac troponin and creatine kinase MB mass for use with European Society of Cardiology/American College of Cardiology consensus document. *Clin Chem* 2003;49:1331–1336.

90 Zaninotto M1, Mion MM, Novello E, Delprete E, Moretti M, Plebani M. Creatine-kinase MB mass: age and sex-associated reference limits in two different platforms that use the same method. *Clin Chim Acta*. 2009 Mar;401(1-2):162-164.

91 Tsung JS, Tsung SS. Creatine kinase isoenzymes in extracts of various human skeletal muscles. *Clin Chem*. 1986;32:1568–1570.

92 Erlacher P, Lercher A, Falkensammer J, Nasonov EL, Samsonov MI, Shtutman VZ, Puschendorf B, Mair J. Cardiac troponin and beta-type myosin heavy chain concentrations in patients with polymyositis or dermatomyositis. *Clin Chim Acta*. 2001 Apr;306(1-2):27-33.

93 Newby LK, Jesse RL, Babb JD, Christenson RH, De Fer TM, Diamond GA, Fesmire FM, Geraci SA, Gersh BJ, Larsen GC, Kaul S, McKay CR, Philippides GJ, Weintraub WS. ACCF 2012 expert consensus document on practical clinical considerations in the interpretation of troponin elevations: a report of the American College of Cardiology Foundation task force on Clinical Expert Consensus Documents. *J Am Coll Cardiol*. 2012 Dec 11;60(23):2427-2463.

94 Emukhvari NM, Tsetsekhladze ED, Khijakadze KhA, Mamatsashvili IO, Napetvaridze RG. Study of CK-MB activity in patients with acute myocardial infarction after percutaneous coronary intervention. *Georgian Med News*. 2015 Feb;(239):47-51.

95 Zhang WZ. Age-associated increase in creatine kinase-MB-specific activity in human serum confounds its use as an injury marker. *Heart Lung Circ*. 2005 Jun;14(2):104-6.

96 Vinales KL, Najib MQ, Marella PC, Katayama M, Chaliki HP. Predictors of Elevated Cardiac Enzyme Levels in Hospitalized Patients with Atrial Fibrillation and No Known Coronary Artery Disease. *Tex Heart Inst J*. 2016 Feb 1;43(1):38-42.

97 Parkkila S, Vullo D, Maresca A, Carta F, Scozzafava A, Supuran CT. Serendipitous fragment-based drug discovery: ketogenic diet metabolites and statins effectively inhibit several carbonic anhydrases. *Chem Commun (Camb)*. 2012 Apr 11;48(29):3551-3553.

98 Kossoff EH, Zupec-Kania BA, Rho JM. Ketogenic diets: an update for child neurologists. *J Child Neurol*. 2009 Aug;24(8):979-988.

99 Dong X, Xiao Y, Jiang X, Wang Y. Quantitative proteomic analysis revealed lovastatin-induced perturbation of cellular pathways in HL-60 cells. *J Proteome Res.* 2011 Dec 2;10(12):5463-5471.

100 American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* 2010 Jan; 33(Supplement 1): S62-S69.

101 Lexis CP, Wieringa WG, Hiemstra B, van Deursen VM, Lipsic E, van der Harst P, van Veldhuisen DJ, van der Horst IC. Chronic metformin treatment is associated with reduced myocardial infarct size in diabetic patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2014 Apr;28(2):163-171.

102 Sun Z, Wu W, Liu J, Ma N, Zheng Z, Li Q, Wang M, Miao J. Influence of glucose-lowering rate on CKMB and myoglobin serum levels in type-2 diabetes patients with coronary heart disease. *Hum Immunol.* 2014 Dec;75(12):1182-1187.

103 American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2013. *Diabetes Care.* 2013 Jan;36 Suppl 1:S11-66.

104 Liew SM, Lee PY, Hanafi NS, Ng CJ, Wong SS, Chia YC, Lai PS, Zaidi NF, Khoo EM. Statins use is associated with poorer glycaemic control in a cohort of hypertensive patients with diabetes and without diabetes *Diabetol Metab Syndr.* 2014 Apr 23;6:53.

105 Kryzhanovski V, Gumprecht J, Zhu B, Yu CY, Hounslow N, Sponseller CA. Atorvastatin but not pitavastatin significantly increases fasting plasma glucose in patients with type 2 diabetes and combined dyslipidemia. *J Am Coll Cardiol.* 2011 Apr;57(14):E575.

106 D'Souza DM, Al-Sajee D, Hawke TJ. Diabetic myopathy: impact of diabetes mellitus on skeletal muscle progenitor cells. *Front Physiol.* 2013 Dec 20;4:379.

107 Phielix E, Mensink M. Type 2 diabetes mellitus and skeletal muscle metabolic function. *Physiol Behav.* 2008 May 23;94(2):252–258.