

**CÍNTIA DE SOUZA LIMA MORAES**

**Estudo da toxicidade muscular pelo uso de estatinas em  
pacientes hipercolesterolêmicos: avaliação pela  
espectroscopia do hidrogênio por ressonância magnética**

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

Programa de: Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Roberto Kalil Filho

**São Paulo  
2012**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

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

©reprodução autorizada pelo autor

Moraes, Cíntia de Souza Lima

Estudo da toxicidade muscular pelo uso de estatinas em pacientes  
hipercolesterolêmicos : avaliação pela espectroscopia do hidrogênio por  
ressonância magnética / Cíntia de Souza Lima Moraes. -- São Paulo, 2012.

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

Orientador: Roberto Kalil Filho.

Descritores: 1.Estatinas 2.Miotoxicidade 3.Espectroscopia 4.Ressonância  
magnética

USP/FM/DBD-343/12

*“...É o tempo da travessia: e, se não  
ousarmos fazê-la, teremos ficado,  
para sempre, à margem de nós mesmos.”*

***Fernando Pessoa***

*“Não é o desafio  
que define quem somos  
nem o que somos capazes de ser,  
mas como enfrentamos esse desafio:  
podemos incendiar as ruínas  
ou construir, através delas e passo a passo,  
um caminho que nos leve  
à liberdade.”*

***Richard Bach***

**Dedicatória**

---

*Ao meu querido filho Lucas,  
Luz da minha vida. Cada sorriso seu, meu filho, me dá forças  
para a caminhada do dia a dia.  
Amo você.*

*Aos meus amados pais, Antonio e Iamara,  
que nunca mediram esforços para me ajudar e apoiar.  
Sou e serei eternamente grata a tudo que fizeram e continuam  
fazendo por mim. Agradeço a Deus por estarem participando  
de mais um momento de conquista na minha vida.  
Esta vitória, dedico a vocês, meus queridos pais.  
Amo vocês.*

*Ao meu esposo, Felipe,  
companheiro e, acima de tudo, amigo. Obrigada por ter estado  
ao meu lado apoiando, incentivando e compreendendo minha  
ausência. Agradeço tudo o que tem feito por mim ao longo  
destes anos.  
Te amo.*

*Ao meu irmão, Guilherme,  
meu alicerce, minha fortaleza. Obrigada pelos seus grandes e  
sábios conselhos de sempre. Agradeço a Deus por você fazer  
parte da minha vida. Amo você, meu irmão querido.*

*Aos meus queridos tios, Ivanira e Odécio, meus segundos pais, muito presentes em todos os momentos da minha vida. Agradeço muito a vocês por participarem e torcerem tanto pela minha vitória.*

*À querida avó Nina, que foi muito presente e importante na minha vida. Gostaria de que, neste momento, tivesse lucidez suficiente para entender e receber os mais sinceros agradecimentos por tudo o que fez por mim.*

*Ao Dr. José Rodrigues Parga Filho, meu chefe e acima de tudo meu amigo. Sempre disposto a ajudar. Tenho muito a agradecer ao senhor pelos preciosos ensinamentos e por estes anos trabalhando ao seu lado. Muito obrigada pelo apoio e pela paciência que teve comigo até a conclusão deste projeto.*

*Especialmente agradeço a todos pelo amor e solidariedade.*

## **Agradecimientos**

---

*Aos pacientes que gentilmente concordaram em participar deste estudo.*

*Aos meus amigos, que compreenderam os meus períodos de ausência e me apoiaram.*

*Ao Dr. Raul Dias dos Santos Filho, pela ajuda e orientação dada durante o projeto.*

*Ao Dr. Luiz Francisco Rodrigues de Ávila, chefe querido, meus sinceros agradecimentos pelo apoio que sempre deu desde o início do estágio de tomografia e ressonância até a conclusão deste projeto.*

*À Sandra Scaramuzzo, que se tornou uma pessoa fundamental neste projeto, muito obrigada pela ajuda.*

*Ao Dr. Márcio Hiroshi Miname. Obrigada por todas as orientações e apoio na fase final de conclusão deste projeto.*

*Ao InCor-HC/FMUSP, por oferecer as condições necessárias para o estudo.*

*A toda a equipe de biomédicos, técnicos de enfermagem, enfermeiros e auxiliares administrativos do InCor do setor de TC/RM cardíaca, pelo empenho na realização dos exames de espectroscopia.*



*À FAPESP, pelo apoio que viabilizou a realização deste projeto.*

*Ao meu orientador, Prof. Dr. Roberto Kalil Filho, exemplo de dedicação ao trabalho. Para mim demonstrou ao longo destes anos que, para alcançar o que se deseja, é preciso persistência e, acima de tudo, muito amor ao que se faz. Muito obrigada pela oportunidade e incentivo para a realização deste projeto.*

**Normatização Adotada**

---

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

## **Sumário**

---

	Pag.
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	
<b>LISTA DE SÍMBOLOS</b>	
<b>LISTA DE SIGLAS</b>	
<b>LISTA DE TABELAS</b>	
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1 O uso de estatina.....	2
1.2 Miotoxicidade.....	3
1.3 Relação entre os diferentes tipos de estatinas e os sintomas musculares.....	4
1.4 Mecanismos de toxicidade.....	7
1.4.1 Excitabilidade da membrana.....	7
1.4.2 Função mitocondrial e depleção de ubiquinona.....	9
1.4.3 Deficiência da homeostase do cálcio.....	10
1.4.4 Indução da apoptose.....	11
1.4.5 Determinantes genéticos.....	12
1.4.6 Hipovitaminose D.....	13
1.5 Fatores de risco para o desenvolvimento de miopatia induzida pela estatina.....	14
1.6 Relação da CPK e a lesão muscular.....	16
1.7 Espectroscopia do hidrogênio por ressonância magnética.....	17
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
<b>3 MÉTODOS.....</b>	<b>25</b>
3.1 Casuística.....	26
3.2 Métodos.....	30
3.2.1 Técnica da espectroscopia do hidrogênio.....	30
3.2.2 Processamento das imagens e análise de dados.....	32
3.3 Análise estatística.....	34
3.3.1 Cálculo do tamanho amostral.....	34
3.3.2 Análise estatística.....	34
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>36</b>
4.1 Características clínicas da amostra.....	37

---

4.2	Parâmetros laboratoriais.....	38
4.3	Avaliação dos parâmetros da espectroscopia.....	41
4.3.1	Avaliação das variáveis e grupos de pacientes.....	41
4.3.2	Avaliação das razões das variáveis e grupos de pacientes.....	42
4.3.3	Comparação das variáveis da espectroscopia nos grupos 2 e 3(após tratamento com estatina).....	43
4.3.4	Avaliação das variáveis da espectroscopia antes e três meses após o tratamento com estatina.....	44
4.3.5	Correlação dos valores de CPK e as variáveis da espectroscopia.....	45
4.3.6	Avaliação da gordura IMCL nos músculos tibial anterior sóleo.....	46
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>47</b>
5.1	Espectroscopia como auxílio diagnóstico na miotoxicidade.....	48
5.2	Avaliação dos parâmetros encontrados na espectroscopia.....	49
5.2.1	Redução do colesterol e sua relação com o IMCL e EMCL.....	50
5.2.2	Deficiência de carnitina e espectroscopia.....	51
5.2.3	Relação dos metabólitos encontrados pela espectroscopia e a CPK.....	52
5.2.4	IMCL e EMCL nos músculos tibial anterior e sóleo.....	54
5.3	Implicações clínicas.....	55
5.4	Limitações.....	56
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>58</b>
<b>7</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>60</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>64</b>



<b>CoQ10</b>	coenzima Q10
<b>CPK</b>	creatinofosfoquinase
<b>Cr (S)</b>	creatina total no músculo sóleo
<b>Cr (T)</b>	creatina total no músculo tibial anterior
<b>Cr total</b>	creatina total
<b>EHRM</b>	espectroscopia do hidrogênio por ressonância magnética
<b>EMCL (S)</b>	gordura extramiocelular no músculo sóleo
<b>EMCL (T)</b>	gordura extramiocelular no músculo tibial anterior
<b>EMCL</b>	gordura extramiocelular
<b>EMCL/Cr (S)</b>	razão da gordura extramiocelular e creatina total no músculo sóleo
<b>EMCL/Cr (T)</b>	razão da gordura extramiocelular e creatina total no músculo tibial anterior
<b>EMCL/TMA (S)</b>	razão da gordura extramiocelular e trimetilamina no músculo sóleo
<b>EMCL/TMA (T)</b>	razão da gordura extramiocelular e trimetilamina no músculo tibial anterior
<b>ERM</b>	espectroscopia por ressonância magnética
<b>HDL-C</b>	lipoproteína de alta densidade
<b>HMG-CoA redutase</b>	3 hidróxi3metilglutaril coenzima A redutase
<b>HMG-CoA</b>	3 hidróxi3metilglutaril coenzima A
<b>IMC</b>	índice de massa corpórea
<b>IMCL (S)</b>	gordura intramiocelular no músculo sóleo
<b>IMCL (T)</b>	gordura intramiocelular no músculo tibial anterior
<b>IMCL</b>	gordura intramiocelular



<b>IMCL/Cr (S)</b>	razão da gordura intramiocelular e creatina total no músculo sóleo
<b>IMCL/Cr (T)</b>	razão da gordura intramiocelular e creatina total no músculo tibial anterior
<b>IMCL/EMCL (S)</b>	razão da gordura intramiocelular e extramiocelular no músculo sóleo
<b>IMCL/EMCL (T)</b>	razão da gordura intramiocelular e extramiocelular no músculo tibial anterior
<b>IMCL/TMA (S)</b>	razão da gordura intramiocelular e trimetilamina no músculo sóleo
<b>IMCL/TMA (T)</b>	razão da gordura intramiocelular e trimetilamina no músculo tibial anterior
<b>LDL-C</b>	lipoproteína de baixa densidade
<b>LSN</b>	limite superior da normalidade
<b>STEAM</b>	stimulated echo acquisition mode
<b>TCLE</b>	termo de consentimento livre e esclarecido
<b>TE</b>	tempo de eco
<b>TG</b>	triglicérides
<b>TGO</b>	transaminase glutâmica oxalacética
<b>TGP</b>	transaminase glutâmica pirúvica
<b>TMA (T)</b>	trimetilamina no músculo tibial anterior
<b>TMA</b>	trimetilamina
<b>TMA (S)</b>	trimetilamina no músculo sóleo
<b>TR</b>	tempo de repetição
<b>TSH</b>	hormônio tireoestimulante
<b>T4 livre</b>	tetraiodotironina livre
<b>UDP</b>	difosfato de uridina
<b>UGT1</b>	glucoroniltransferase1

<b>cm<sup>3</sup></b>	centímetros cúbicos
<b>Kg</b>	quilograma
<b>Kg/m<sup>2</sup></b>	quilograma por metro quadrado
<b>m</b>	metros
<b>mg</b>	miligrama
<b>mg/dL</b>	miligrama por decilitro
<b>mm</b>	milímetros
<b>ms</b>	milissegundo
<b>mUI/L</b>	miliunidades internacionais por litro
<b>ng/dL</b>	nanograma por decilitro
<b>ppm</b>	partes por milhão
<b>T</b>	tesla
<b>U/L</b>	unidades por litro

**ACC** American College of Cardiology

**AHA** American Heart Association

**CAPPesq** Comissão de Ética para Análise de Projetos de  
Pesquisa

**FDA** Food and Drug Administration

**FMUSP** Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

**InCor** Instituto do Coração

---

	<b>Pag.</b>
<b>Tabela 1.</b> Fatores de risco endógenos para toxicidade muscular à estatina.....	15
<b>Tabela 2.</b> Fatores de risco exógenos para toxicidade muscular à estatina.....	15
<b>Tabela 3.</b> Grupos de pacientes.....	26
<b>Tabela 4.</b> Frequências de ressonância dos metabólitos em partes por milhão (ppm).....	33
<b>Tabela 5.</b> Caracterização da amostra, segundo os grupos de estudo.....	37
<b>Tabela 6.</b> Descrição dos parâmetros laboratoriais pré-tratamento com estatina.....	39
<b>Tabela 7.</b> Descrição dos parâmetros laboratoriais após tratamento com estatina.....	40
<b>Tabela 8.</b> Comparação dos parâmetros laboratoriais no grupo 3 pré e pós-tratamento.....	41
<b>Tabela 9.</b> Descrição dos parâmetros das espectroscopias.....	42
<b>Tabela 10.</b> Descrição das razões das espectroscopias.....	42
<b>Tabela 11.</b> Resultados das variáveis pela espectroscopia nos grupos 2 e 3 (após tratamento com estatina).....	43
<b>Tabela 12.</b> Resultados das variáveis pela espectroscopia no grupo 3 antes e após tratamento com estatina.....	44
<b>Tabela 13.</b> Correlação da CPK sérica e as razões entre as gorduras IMCL e EMCL e creatina total nos músculos tibial anterior e sóleo no grupo 2.....	45
<b>Tabela 14.</b> Comparação da gordura IMCL nos músculos tibial anterior e sóleo para os três grupos.....	46

	<b>Pag.</b>
<b>Figura 1.</b> Fluxograma da inibição da HMG-CoA redutase.....	8
<b>Figura 2.</b> Imagem por ressonância magnética da perna direita. Corte transversal demonstrando a localização dos músculos tibial anterior e sóleo.....	19
<b>Figura 3.</b> Desenho do estudo para os grupos 1 e 2.....	29
<b>Figura 4.</b> Desenho do estudo para o grupo 3.....	30
<b>Figura 5.</b> Exemplo de espectroscopia do hidrogênio do músculo tibial anterior utilizando o programa LCModel.....	33

**Resumo**

---

Moraes CSL. *Estudo da toxicidade muscular pelo uso de estatinas em pacientes hipercolesterolêmicos: avaliação pela espectroscopia do hidrogênio por ressonância magnética* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2012.77p.

A doença cardiovascular é a principal causa de morte no mundo ocidental e as estatinas são os medicamentos mais prescritos para prevenção e tratamento. Apesar de serem os fármacos mais prescritos, ainda são subutilizados, tendo como principal causa de interrupção do tratamento a miopatia. Entre os mecanismos envolvidos na fisiopatologia da miotoxicidade, a deficiência da coenzima Q10 vem sendo apontada como a principal responsável deste efeito colateral. A creatinofosfoquinase (CPK) é um biomarcador de gravidade dos danos musculares sendo utilizado de rotina na prática clínica. Contudo, seus níveis podem estar normais ou aumentados em pacientes em uso de estatinas e apresentando sintomas musculares. Sendo assim, a espectroscopia do hidrogênio por ressonância magnética (EHRM) poderia auxiliar no diagnóstico da toxicidade muscular causada pelas estatinas, através de um estudo metabólico de alterações decorrentes dos vários mecanismos envolvidos isolados ou associados. O objetivo deste estudo é avaliar as concentrações das gorduras intramiocelulares (IMCL) e extramiocelulares (EMCL), creatina total (Cr total) e trimetilamina (TMA), nos músculos tibial anterior e sóleo, nos pacientes em uso de estatina e com sintomas musculares e comparar com indivíduos hipercolesterolêmicos ( $LDL \geq 160 \text{ mg/dL}$ ) e normocolesterolêmicos ( $LDL < 160 \text{ mg/dL}$ ), ambos sem tratamento. Também avaliar o efeito da redução do colesterol plasmático (após três meses de tratamento com estatinas) nas concentrações de gorduras IMCL e EMCL. Além disso, fazer uma correlação entre os níveis de CPK destes pacientes com as variáveis da espectroscopia. Noventa e um pacientes (média de 44 anos, 54 mulheres e 37 homens) foram submetidos à coleta de sangue para avaliação do perfil lipídico, TGO, TGP, CPK, TSH, T4 livre, creatinina e glicemia, e H-MRS para avaliação dos metabólitos IMCL, EMCL, Cr total e TMA. Os pacientes foram divididos em três grupos: grupo 1 (pacientes com  $LDL-C < 160 \text{ mg/dL}$ , sem uso de medicação hipolipemiante)  $n=49$ , grupo 2 (pacientes em uso de estatina e apresentando sintomas musculares)  $n=18$  e grupo 3 (pacientes com  $LDL-C \geq 160 \text{ mg/dL}$ , sem uso de estatina)  $n=24$ . Os pacientes do grupo 3 foram submetidos à coleta de sangue e a EHRM em dois momentos: antes e três meses após o tratamento com sinvastatina 20mg. Os exames foram realizados utilizando o aparelho de ressonância magnética SIGNA 1,5 T (Tesla) (General Electric, Milwaukee, WI, USA) e as imagens foram analisadas e processadas automaticamente utilizando o programa LCModel versão 6.2 (<http://s-provencher.com/>). Foram obtidos 115 exames de

espectroscopia. Os pacientes do grupo 2 ( $55\pm 9$  anos) eram mais velhos do que os dos grupos 1 ( $38\pm 11$  anos) e 3 ( $48\pm 9$  anos) respectivamente,  $p < 0,001$ . Houve diferença significativa entre os grupos, pré-tratamento, em relação ao colesterol total, LDL-colesterol, triglicérides e TGO ( $p < 0,001$ ). Não foi observada diferença significativa nos níveis de CPK entre os grupos 1, 2 e 3 ( $p = \text{NS}$ ). No grupo 3, houve redução significativa nos níveis de colesterol total, LDL-C e triglicérides após tratamento com estatina ( $p < 0,05$ ). Não houve diferença significativa entre as variáveis IMCL, EMCL, Cr total e TMA, assim como suas razões entre os grupos avaliados e no grupo 3 antes e após o tratamento com estatinas ( $p = \text{NS}$ ). Em relação aos valores de CPK e os resultados encontrados nas espectroscopias dos pacientes do grupo 2, observamos uma correlação positiva e significativa entre a análise sérica da CPK e a razão da gordura IMCL e creatina total no músculo tibial anterior ( $r = 0,253$ ;  $p = 0,018$ ). A EHRM é um exame factível para ser utilizado na prática clínica, porém não foi possível demonstrar alterações nas concentrações dos metabólitos nos músculos tibial anterior e sóleo entre os grupos estudados. Os achados de correlações entre a CPK e a razão da gordura IMCL e creatina total podem sugerir uma manifestação precoce de toxicidade muscular causada pelas estatinas, em pacientes com sintomas musculares.

**Descritores:** 1. Estatinas 2. Miotoxicidade 3. Espectroscopia 4. Ressonância magnética



**Summary**

---

Moraes CSL. *Study of muscle toxicity by use of statins in hypercholesterolemic patients: evaluation by proton magnetic resonance spectroscopy* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2012. 77p.

Cardiovascular disease is the leading cause of death in the western world and statins are the most prescribed medications for prevention and treatment. Despite being the most prescribed drugs, they are still under-used. The main cause of interruption of statin treatment is myopathy. Among the mechanisms involved in the pathophysiology of myotoxicity, deficiency of coenzyme Q10 has been described as the main cause of this side effect. Creatine kinase (CK) is a biomarker for severity of muscle damage, but its levels may be normal or increased in patients on statin use and muscle symptoms. Thus, proton magnetic resonance spectroscopy (H-MRS) could assist in the diagnosis of muscle toxicity caused by statins, through a study of the metabolic changes. The aim of this study is to evaluate the concentrations of intramyocellular (IMCL) and extramyocellular lipids (EMCL), total creatine and trimethylamine (TMA), on tibialis anterior and soleus muscles in patients on statin use and muscle symptoms and compare with hypercholesterolemic subjects (LDL  $\geq$  160mg/dL) and normal subjects (LDL < 160mg/dL), both without treatment. Also, the effect on LDL serum levels (after three month statin treatment), and concentrations of IMCL and EMCL lipids. In addition, make a correlation between the levels of CK and the variables of spectroscopy.

Ninety-one patients (mean age=44, 54 women and 37 men) were submitted to blood sampling for evaluation of serum total cholesterol, LDL-C, HDL-C, triglycerides, AST, ALT, CK, glucose, TSH and creatinine, and H-MRS for evaluation of metabolites, IMCL and EMCL lipids, total creatine and TMA. Patients were divided in 3 groups: 1 (patients with LDL-C < 160mg/dL, without statin use) n=49, 2 (patients on statin use and muscle symptoms) n=18 and 3 (patients with LDL-C  $\geq$  160mg/dL, without statin use) n=24. Group 3 were subjected to blood sampling and the H-MRS on two occasions: before and three months after treatment with simvastatin 20 mg. The tests were carried out in a MRI SIGNA 1.5 Tesla (General Electric, Milwaukee, WI, USA) magnet and the images were processed automatically using the software LCModel version 6.2 (<http://s-provencher.com/>). From the 91 study subjects a total of 115 H-MRS scans were performed. Patients in group 2 (age 55.0  $\pm$  9.0 years) were older, respectively, than in groups 3 (48.0  $\pm$  9.0 years) and 1 (38.0  $\pm$  11.0 years), p<0.001. There was a statistically significant difference between the groups before treatment in relation to the total cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides and AST (p<0.001). There were no significant differences on plasma CK levels, in patients presenting muscle symptoms

( $p=NS$ ). In Group 3, there was significant reduction in levels of total cholesterol, LDL-C and triglycerides after treatment with statin ( $p<0.05$ ). There were no significant differences regarding median IMCL variables, EMCL, total creatine and TMA, in the tibialis anterior and soleus muscles as well as their ratios among the three groups and after group 3 three month treatment ( $p=NS$ ). A significant and positive correlation ( $r=0.253$ ,  $p=0.018$ ), was found in group 2 between serum CK and the ratio of intramyocellular and total creatine in tibialis anterior muscle. H-MRS is a feasible exam to be used in clinical practice; however it has not been possible to demonstrate changes in concentrations of the metabolites in the tibialis anterior and soleus muscles. The findings of correlations between CK and intramyocellular and total creatine may suggest an early manifestation of muscle toxicity caused by statins in patients with muscle symptoms.

**Descriptors:** 1.Statin 2. Miotoxicity 3.Spectroscopy 4.Magnetic resonance

# **1. Introdução**

---

## 1.1 O uso de estatinas

A doença cardiovascular é a principal causa de morte no mundo ocidental e as estatinas são os medicamentos mais comumente prescritos para prevenção e tratamento. A eficácia das estatinas em reduzir os níveis de colesterol e o risco de doença coronária, bem como sua segurança e tolerabilidade, já está bem estabelecida<sup>1-10</sup>. São os fármacos mais prescritos no mundo, porém ainda subutilizados. Apenas 50% dos pacientes que teriam indicação de tratamento recebem a medicação<sup>11,12</sup> e a principal causa conhecida de interrupção do mesmo é a miopatia<sup>13-15</sup>. Após o início do tratamento, 25% dos adultos interrompem o uso em seis meses e até 60% em dois anos<sup>16</sup>. Estima-se que nos Estados Unidos existam 33 milhões de adultos em uso de estatina e, desses, sete milhões apresentam dor muscular, sendo 25% causado pela estatina<sup>17</sup>.

A incidência de miotoxicidade é estimada em 0,1 a 0,5% nos casos de monoterapia e 0,5 a 2,5% nos casos de associação de medicação<sup>18</sup>. Em estudos randomizados, a incidência é de aproximadamente 1,5 a 5%<sup>13,19</sup>. Em um estudo com 45 pacientes apresentando miopatia associada à estatina, os sintomas musculares apareceram em 6,3 meses após o início do tratamento e persistiram por 2,3 meses após ter sido descontinuada a terapia<sup>20</sup>.

## 1.2 Miotoxicidade

As várias formas de miotoxicidade incluem: miopatia, mialgia, miosite e, mais gravemente, rabdomiólise<sup>21</sup>.

Miopatia é definida como qualquer desconforto muscular<sup>19,22,23</sup>. A incidência de miopatia em estudos randomizados é de 11 pacientes por 100.000 pessoas/ano<sup>19</sup>. Em uma meta-análise de 16 estudos incluindo 41.457 pacientes, Kashani e colaboradores observaram que não houve um aumento significativo da CPK em pacientes tratados com estatinas e que apresentavam sintomas musculares<sup>24</sup>.

Mialgia é definida como dor muscular sem elevação da creatinofosfoquinase (CPK) e ocorre em 2 a 7% dos pacientes<sup>22-26</sup>, e a miosite como sintoma muscular e elevação da CPK de 3 a 10 vezes o limite superior da normalidade (LSN)<sup>22,23,25</sup>. A elevação assintomática da CPK acima de dez vezes o limite superior da normalidade pode ocorrer em 11 a 63% dos pacientes<sup>23</sup>.

Rabdomiólise é o mais grave efeito colateral causado pelas estatinas e pode causar insuficiência renal aguda, coagulação intravascular disseminada e morte. Estima-se que a mortalidade esteja em torno de 0,3 por 100.000 pessoas/ano<sup>26</sup>. Os níveis de CPK apresentam-se acima de 10.000 U/L ou de 10 vezes o LSN com elevação da creatinina sérica ou necessidade de terapia de hidratação<sup>19,22,23</sup>. De acordo com o Food and Drug Administration (FDA), a incidência de rabdomiólise fatal é de 0,15 por um milhão de prescrições de estatina<sup>24</sup>. A rabdomiólise devido ao uso de

estatinas ocorre em 60% dos casos de interações medicamentosas<sup>24</sup>. O uso concomitante de estatina e fibrato, mais especificamente o genfibrozil, relacionou-se a uma incidência de rabdomiólise dez vezes mais alta<sup>17</sup>.

De acordo com o FDA Adverse Effects Reporting System (AERS), a frequência de rabdomiólise é quatro vezes maior na monoterapia com lovastatina, sinvastatina e atorvastatina do que com o uso da pravastatina e fluvastatina<sup>27</sup>.

De acordo com o US National Lipid Association Statin Safety Assesment Task Force<sup>22</sup>, uma meta-análise de 21 estudos com 180.000 pacientes seguidos por um ano, a miopatia ocorreu em cinco por 100.000 pacientes/ano e rabdomiólise em 1,6 por 100.000 pacientes/ano<sup>17</sup>.

A mialgia causada pela estatina tem como sintomas a sensação de peso, cansaço ou câimbras principalmente em membros inferiores. Além disso, alguns pacientes podem referir dor articular e fraqueza muscular durante a atividade física<sup>25</sup>. Atletas, quando necessitam da medicação, frequentemente não toleram a terapia.

### **1.3 Relação entre os diferentes tipos de estatinas e os sintomas musculares**

Em geral, a efetividade da estatina é dose dependente. A cada dose duplicada, espera-se uma redução de 7% do LDL colesterol<sup>28</sup>. A eficácia e toxicidade são diferentes para cada tipo de estatina utilizada.

A frequência dos sintomas musculares associados à terapia com estatina foi avaliada no estudo PRIMO<sup>28</sup> (Prediction of Muscular Risk in Observational Conditions). Este estudo avaliou 7924 pacientes com dislipidemia, com idade entre 18 e 75 anos, recebendo altas doses de estatinas por três meses ou mais antes do estudo<sup>28</sup>. Os sintomas musculares foram relatados por 832 pacientes (10,5%). Estes sintomas foram duas vezes maiores do que os sintomas observados nos estudos clínicos envolvendo o uso de estatina (1-5%)<sup>29</sup>. Os sintomas musculares foram maiores nos pacientes em uso de sinvastatina 40 a 80mg (18,2%), seguido de atorvastatina 40 a 80mg (14,9%), pravastatina 40mg (10,9%) e fluvastatina 80mg (5,1%). As causas do sintoma de dor muscular foram diagnosticadas em 41% dos 832 pacientes, sendo 53% durante o exercício físico e 30% com o uso de medicações concomitantes. O tempo médio de aparecimento dos sintomas foi de um mês após o início ou aumento da estatina. Fraqueza, rigidez e câimbras foram descritas em 57,9% dos pacientes, fraqueza muscular esteve presente em 26,6% dos pacientes e dor generalizada em 60,1% dos pacientes. As dores foram mais descritas nas extremidades, incluindo coxas e pernas<sup>28</sup>. Este estudo sugere a importância de se reconhecer os fatores de risco responsáveis pelos sintomas musculares, auxiliando na identificação e manuseio de pacientes com elevado risco para desenvolver miotoxicidade. Em uma meta-análise de Kashani e colaboradores, as mialgias foram descritas em 21 estudos com 48.138 pacientes. Quando a mialgia foi avaliada entre os pacientes em uso de estatina, apenas a atorvastatina apresentou um aumento significativo de



risco quando comparado ao placebo (5,1% versus 1,6%)<sup>24</sup>. Buettner e colaboradores avaliaram 3580 pacientes acima de 40 anos de idade<sup>30</sup>. Em relação aos que faziam uso de estatinas, 22% relataram dor muscular em pelo menos uma região anatômica nos últimos 30 dias, comparado com 16,7% que não faziam uso da medicação<sup>30</sup>.

Estudos indicam que as estatinas possuem características diferentes, podendo ser hidrofílicas ou lipofílicas, sendo as primeiras melhor toleradas<sup>31</sup>. Além disso, a via de metabolização das estatinas também difere entre si. A rosuvastatina é metabolizada pelo CYP P450 2C9 e 2C19, a lovastatina, sinvastatina e atorvastatina pelo sistema enzimático CYP P450 3A4, a fluvastatina pelo CYP P450 2C9 2D6, enquanto a pravastatina é metabolizada por sulfatação<sup>32</sup>. Desta forma, a miotoxicidade pode ocorrer quando as estatinas são associadas a medicações que utilizam ou inibem a mesma via metabólica<sup>32</sup>. Muitos estudos têm sugerido que a interação das estatinas com várias medicações ou substâncias que utilizam o CYP450 3A4 como ciclosporina, antifúngicos, verapamil, inibidores de protease do vírus HIV, e o CYP 450 2C como amiodarona, cimetidina, fluoxetina, fenitoína e varfarin, podem resultar em aumento da concentração sérica da estatina e, conseqüentemente, miopatia<sup>13</sup>. A rosuvastatina tem sido apontada como responsável pela miopatia quando utilizada em combinação com sildenafil<sup>33</sup>.

História familiar de dor muscular, câimbras, hipotireoidismo, idosos, sexo feminino, etilismo, atividade física intensa, insuficiência renal ou hepática, uso de medicações e histórico prévio de CPK elevada são considerados como fatores de risco maiores para o desenvolvimento de

sintomas musculares, durante o tratamento com altas doses de estatina<sup>28,34</sup>. Vladutiu e colaboradores, em um estudo com 136 pacientes em uso de estatinas e que apresentaram miopatia, sugerem uma elevada prevalência de doenças musculares metabólicas na população geral. Os achados deste estudo indicam que alguns pacientes, que desenvolveram miopatia desencadeada pelo uso das estatinas, apresentavam doença muscular preexistente<sup>27</sup>.

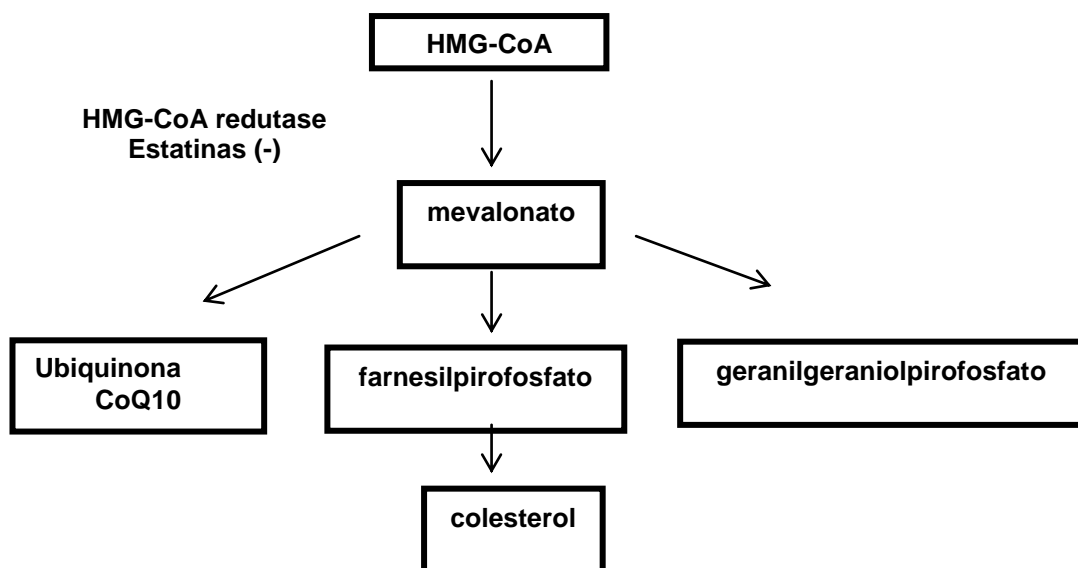
#### **1.4 Mecanismos de toxicidade**

A exata fisiopatologia da miopatia causada pela estatina não é bem conhecida e tem sido pouco estudada. Vários mecanismos fisiopatológicos podem contribuir para a miotoxicidade, entre eles a excitabilidade da membrana, função mitocondrial e depleção de ubiquinona, homeostase do cálcio, indução de apoptose, determinantes genéticos e hipovitaminose D.

##### **1.4.1 Excitabilidade da membrana**

Estatinas são inibidores seletivos da 3-hidroxi 3-metilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA) e normalmente não possuem afinidade por outras enzimas ou sistemas de receptores<sup>35</sup>. A síntese do colesterol é um processo que envolve vários estágios<sup>36</sup>. HMG-CoA redutase é a enzima

principal neste processo e catalisa a conversão da HMG-CoA em mevalonato (Figura 1). O mevalonato não é apenas um precursor do colesterol, mas um dos metabólitos intermediários isoprenoides. Os isoprenoides têm um importante papel na modificação lipídica das proteínas pós-transcricionais. A deficiência de isoprenoide pode prejudicar a síntese da transferência do RNA, glicoproteínas, o transporte elétrico de proteínas de cadeia heme, ubiquinona (coenzima Q10) e pequenas proteínas G envolvidas na sinalização e na atenuação da apoptose<sup>23</sup>.



**Figura 1.** Fluxograma da inibição da HMG-CoA redutase.

O colesterol modula o fluxo da membrana em vários tecidos, incluindo o músculo esquelético. Esta alteração de fluxo pode afetar os canais de sódio, potássio e cloro, modificando a excitabilidade da membrana

muscular. Os canais de cloro, no músculo esquelético, controlam o potencial de repouso da membrana e sua repolarização<sup>18</sup>. Estudo em animais recebendo sinvastatina evidenciou uma redução, dose dependente, na condução do cloro pela membrana, sendo que o potencial de repouso não foi afetado<sup>37</sup>. O uso crônico da sinvastatina em coelhos está relacionado a uma piora na condução do cloro pela membrana e esta alteração foi semelhante à observada na miotonia<sup>18</sup>.

Desta forma, as estatinas seriam responsáveis por uma modificação na excitabilidade e permeabilidade da membrana causando uma alteração na condução do cloro e, conseqüentemente, miotoxicidade.

#### **1.4.2 Função mitocondrial e depleção de ubiquinona**

A teoria mitocondrial é baseada no fato das estatinas inibirem a síntese do mevalonato, um precursor do colesterol e da coenzima Q10 (CoQ10), e essa ação induzir a deficiência da CoQ10 levando a miopatia<sup>18,38,39</sup>. A CoQ10 é um importante cofator para o transporte de elétrons e antioxidante da mitocôndria e membrana lipídica<sup>40</sup>. A depleção da CoQ10 na mitocôndria do miócito pode levar a uma alteração na cadeia respiratória celular e conseqüentemente a toxicidade muscular, incluindo rabdomiólise<sup>40,41</sup>, e estes efeitos podem ser potencializados com o exercício físico<sup>39,42</sup>. O efeito da terapia com estatina, nos níveis intramusculares da CoQ10, ainda não está bem estabelecido e estudos que avaliem esta

enzima, em pacientes sintomáticos, ainda são escassos. Estudo com 18 pacientes, submetidos à biópsia muscular, em uso de estatina e apresentando miopatia, descreve que apenas dois casos apresentaram discreto sinal de disfunção mitocondrial<sup>43</sup>. Outro estudo com 16 pacientes, recebendo sinvastatina 80mg/dia, também sugere que ocorra redução na concentração dos níveis musculares de CoQ10<sup>39</sup>.

A suplementação de CoQ10 pode aumentar seus níveis circulantes, mas os resultados em relação aos sintomas musculares ainda são controversos<sup>24,25,39,44-46</sup>.

### **1.4.3 Deficiência da homeostase do cálcio**

Os modelos animais têm sido usados para demonstrar que as estatinas podem alterar o cálcio citosólico das seguintes maneiras: aumentando a permeabilidade do cálcio mitocondrial e sua liberação pelo retículo sarcoplasmático<sup>25,40</sup> e reduzindo a atividade do cálcio ATPase (SERCA) no retículo sarcoplasmático<sup>40</sup>.

Lorkowska e colaboradores descreveram que alguns isoprenoides inibem os canais de cálcio tipo L nas células musculares lisas vasculares, e isso pode explicar porque as estatinas induzem a um aumento de cálcio no endotélio<sup>47</sup>. Em estudos in vitro, a sinvastatina, em concentração terapêutica, permite uma grande transferência do cálcio intracelular para o citoplasma das fibras musculares, e este fluxo de cálcio ocorre devido à

alteração da permeabilidade na membrana mitocondrial<sup>18,27</sup>. Estudos sugerem que pacientes em uso crônico de estatina apresentam uma grande transferência de cálcio intracelular e, conseqüentemente, sintomas de mialgia ou câimbras<sup>48</sup>.

#### **1.4.4 Indução da apoptose**

Apoptose é a morte celular programada que é regulada e executada pela ativação de uma via específica<sup>49</sup>. Estudos in vitro e in vivo sugerem que as estatinas podem levar a apoptose do músculo esquelético e miopatia através de propriedades pleiotrópicas<sup>18,36,50</sup>. Este processo, dose dependente, tem sido observado nas células musculares lisas dos vasos<sup>42,50</sup>, células endoteliais<sup>42</sup>, células sinoviais reumatoides, miócitos cardíacos e muitas células cancerígenas<sup>49</sup>. As estatinas diminuem a síntese de proteínas, crescimento, fusão e diferenciação dos mioblastos, podendo prejudicar a capacidade de regeneração do músculo in vitro<sup>18</sup>. A apoptose, induzida pela estatina nos mioblastos do músculo esquelético e miotubos, está associada à elevação do cálcio citosólico<sup>45,49</sup>. O processo resulta na depleção dos isoprenoides com diminuição da geranylgeranilação e/ou farsenilação, podendo aumentar os níveis de cálcio citosólico e ativar a cascata mitocondrial apoptótica<sup>49,51</sup>. Tem sido sugerido que o dano causado pela estatina esteja associado ao aumento nos níveis da caspase-3, como marcador precoce de apoptose. Entretanto, ainda não está bem estabelecido

se as estatinas induzem a atividade da caspase-3 in vivo 24 horas após a administração desta medicação<sup>45</sup>.

#### 1.4.5 Determinantes Genéticos

O risco de miotoxicidade induzida pela estatina aumenta quando associada a medicações metabolizadas pelo citocromo P450<sup>25,40</sup>. Tem sido descrito que a patogenia da miopatia causada pela estatina, quando associada a outras drogas, esteja relacionada com a inibição da via de glucoronidação, uma via metabólica comum para biotransformação da estatina. As enzimas do citocromo P450 oxidam muitas estatinas na fase I do metabolismo. Polimorfismos no difosfato de uridina (UDP) – glucoroniltransferase1 (UGT1) levam a modificação da estatina na fase II do metabolismo. Polimorfismos no ânion orgânico transportador de soluto (SLCO), da família dos transportadores de membrana, são variações genéticas associadas à miotoxicidade induzida pela estatina e alterando a absorção das mesmas<sup>38</sup>.

Vladiutiu e colaboradores<sup>27</sup> sugerem que 10% dos pacientes com miotoxicidade são heterozigotos ou homozigotos para doenças que causam mutação como, por exemplo, deficiência de mioadenilato deaminase, doença de Mc Ardle e deficiência de carnitina palmitoyltransferaseII<sup>25,27</sup>.

O estudo SEARCH<sup>52</sup> evidenciou uma forte associação da miopatia induzida pela estatina com variações no gene SLCO1B1 que codifica o

polipeptídeo OATP1B, responsável por regular a absorção hepática das estatinas<sup>27,51,53</sup>. Uma variedade de simples polimorfismos de nucleotídeos e doenças que causem mutação podem contribuir para a predisposição genética da miopatia ocasionada pela estatina<sup>27,53</sup>. Variações genéticas e mutações dos genes CYP e COQ2 podem determinar uma susceptibilidade individual para o desenvolvimento de miopatia causada pelo uso de estatina e conseqüentemente iniciar uma forma imunomediada de miopatia necrotizante e inflamatória, além de agravar inúmeras miopatias metabólicas e outras desordens neuromusculares<sup>54</sup>.

#### **1.4.6 Hipovitaminose D**

A vitamina D é uma substância importante para que ocorra a contração muscular adequada. A forma ativa da vitamina D, 1,25-dihidroxi vitamina D [1,25(OH)<sub>2</sub>D], liga-se a dois diferentes receptores de vitamina D no miócito auxiliando na contratilidade muscular<sup>55</sup>.

Estudos recentes sugerem que a deficiência de vitamina D, ou seja, 25-hidroxi vitamina D abaixo de 30ng/ml, está associada com mialgia em pacientes em uso de estatinas<sup>56,57</sup>.

Gupta e colaboradores sugerem que pacientes apresentando mialgia em uso de estatinas e com níveis baixos de vitamina D podem apresentar reversão deste sintoma com a suplementação oral diária de colecalciferol. Entretanto, a suplementação da vitamina D em pacientes com sintomas



musculares em uso de estatinas, que não apresentem hipovitaminose D, ainda não é recomendada<sup>58</sup>.

### **1.5 Fatores de risco para o desenvolvimento de miopatia induzida pela estatina**

Os fatores de risco para o desenvolvimento de miopatia podem ser endógenos ou exógenos. A prevenção da miopatia envolve o uso de baixa dose de estatina, mas que, ainda assim, atinja o objetivo terapêutico. Além disso, deve-se evitar a utilização da politerapia com drogas que aumentem a exposição sistêmica e, conseqüentemente, ao risco de miopatia<sup>59</sup>.

A identificação de pacientes com risco elevado para desenvolver miopatia é de extrema importância. De acordo com o estudo PRIMO, os fatores de risco maiores para o desenvolvimento de miopatia durante o uso de elevada dose de estatina são: história pessoal ou familiar de sintomas musculares, câimbras, hipotireoidismo e níveis elevados de CPK<sup>28</sup>. O estudo QResearch sugere que as mulheres são mais afetadas pela miopatia em relação aos homens se apresentarem, como fatores de risco, hipotireoidismo, diabetes tipo 1, doença hepática crônica e estiverem em tratamento de hipertensão<sup>34</sup>. O uso de corticoides, em homens, aumenta em duas vezes o risco de miopatia e, em mulheres, três vezes<sup>34</sup>. Mulheres com diabetes tipo 1 apresentam um risco cinco vezes maior de desenvolvimento de miopatias<sup>34</sup>. Os fatores de risco para o desenvolvimento de miotoxicidade estão descritos nas tabelas 1 e 2<sup>13,28,59,60</sup>.

**Tabela 1.** Fatores de risco endógenos para toxicidade muscular à estatina

<b>Fatores Endógenos</b>
Idade Avançada (>65 anos)
Baixo Índice de Massa Muscular
Doença Multissistêmica
-Insuficiência renal
-Insuficiência hepática
Disfunção tireoideana (hipotireoidismo)
Hipertrigliceridemia
Doenças musculares metabólicas
-Deficiência de carnitina palmitoyltransferase II
-Doença de McArdle (deficiência de miofosforilase)
-Deficiência de mioadenilato deaminase
História familiar de sintomas musculares
História pessoal de elevação da CPK ou sintomas musculares

**Tabela 2.** Fatores de risco exógenos para toxicidade muscular à estatina

<b>Fatores Exógenos</b>
Consumo de álcool
Atividade física intensa
Cirurgias com elevada demanda metabólica
Drogas que afetam o citocromo P450
-Ciclosporina
-Fibratos
-Ácido Nicotínico
-Bloqueadores de canal de cálcio (verapamil, diltiazem)
-Amiodarona
-Antifúngicos
-Colchicina
-Digoxina
-Inibidores da protease do vírus da imunodeficiência humana
-Warfarin (coumadin)
Consumo de >1L de suco de "grapefruit" por dia
Consumo de arroz vermelho
Consumo de alguns tipos de cogumelos

A miopatia causada pela estatina nem sempre é dose dependente e a mialgia poderá ocorrer mesmo com dose baixa da medicação, enquanto que a rabdomiólise é extremamente rara<sup>32</sup>. Tem sido descrito que o risco de miopatia é mais elevado no caso das estatinas lipofílicas que são transportadas por difusão passiva e têm a capacidade de entrar nas células musculares e alterar a estrutura da membrana<sup>40</sup>. Já as estatinas hidrofílicas,

como a pravastatina e rosuvastatina, necessitam de uma proteína 2 resistente a multidroga<sup>40</sup>. A capacidade de induzir miopatia também está relacionada com a meia-vida de eliminação, ou seja, quanto mais prolongada, maiores os efeitos colaterais. A meia-vida da atorvastatina é de 15-30h, enquanto que a fluvastatina possui uma meia-vida de 0,5-2,3h<sup>25,35</sup>.

## 1.6 Relação da CPK e a lesão muscular

CPK é um biomarcador de gravidade de danos musculares. Entretanto, os níveis de CPK em pacientes com toxicidade muscular em uso de estatinas podem ser normais ou elevados. Há relatos sugerindo que pacientes que recebem estatinas e desenvolvem dores musculares podem apresentar, pela biópsia, sinais histopatológicos de miopatia, apesar dos níveis séricos de CPK estarem normais<sup>60</sup>.

O dano muscular pode ser visto histologicamente mesmo quando os pacientes são assintomáticos ou apresentam níveis normais de CPK. Draeger e colaboradores descreveram que pacientes assintomáticos em uso de estatina podem apresentar dano ultraestrutural, ou seja, quebra do sistema tubular T e ruptura do sarcolema no músculo esquelético<sup>61</sup>. A análise histológica de pacientes em uso de estatinas com sintomas musculares, sem elevação nos níveis de CPK, sugeriu mudanças como alteração da arquitetura da miofibrila, necrose e sinais de disfunção mitocondrial, que são reversíveis com a interrupção da droga<sup>60</sup>.

Portanto, a biópsia muscular com análise morfológica e bioquímica é considerada padrão-ouro, porém é uma forma invasiva e dolorosa para avaliar a miotoxicidade causada pelas estatinas.

Sendo assim, a espectroscopia por ressonância magnética (ERM) pode ser uma alternativa que auxiliaria no diagnóstico da toxicidade muscular causada pelas estatinas, através de um estudo metabólico de alterações decorrentes de vários mecanismos envolvidos isolados ou associados.

### **1.7 Espectroscopia do hidrogênio por ressonância magnética**

A espectroscopia do hidrogênio por ressonância magnética (EHRM) é um método utilizado para mensurar, de forma não invasiva, o metabolismo em alguns órgãos<sup>62</sup>. O mais abundante dos núcleos é o hidrogênio, sendo o mais estudado, melhor entendido e com aplicações clínicas comprovadas, entre elas no cérebro, medula óssea, próstata, mama, fígado e músculo esquelético. O hidrogênio possui alta concentração na água e no tecido adiposo em relação a qualquer outro metabólito do tecido humano. Desta forma, o sinal da água é suprimido por técnicas específicas enquanto o espectro de hidrogênio é adquirido. Este método permite avaliar e quantificar as gorduras intramiocelulares (IMCL), ou seja, dentro das fibras musculares, extramiocelulares (EMCL), dentro dos adipócitos, e os metabólitos creatina total (Cr total) e trimetilamina (TMA)<sup>63</sup>. Os metabólitos Cr total e TMA

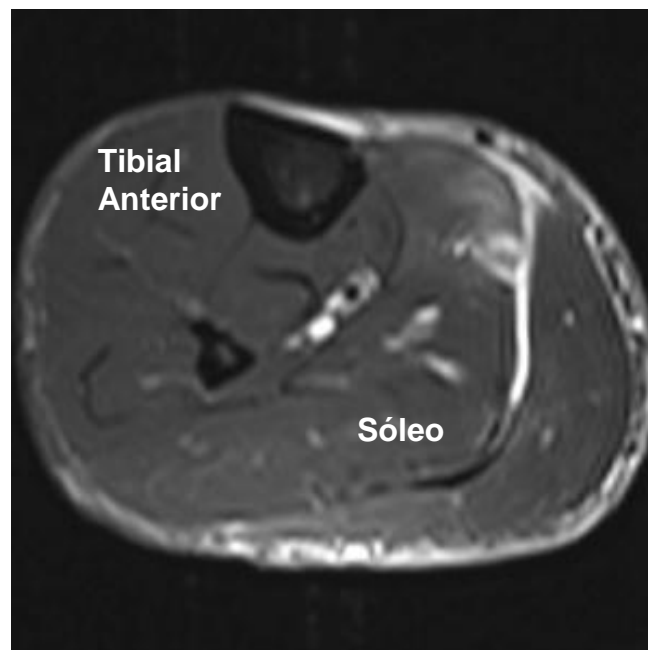
correspondem à associação de creatina livre + fosfocreatina e carnitina + colina, respectivamente<sup>63</sup>.

Os resultados de estudos prévios in vivo utilizando este método para quantificar a gordura IMCL têm mostrado significativa correlação com os achados bioquímicos e da microscopia eletrônica após a biópsia<sup>64</sup>.

A EHRM utiliza como princípio básico um campo magnético alto para alinhar os prótons, e os pulsos de radiofrequência são utilizados para excitar todos os tecidos dentro deste volume, sendo, posteriormente, o movimento dos prótons medido e transformado em espectro<sup>65</sup>. O sinal é captado por bobinas receptoras posicionadas no tecido a ser estudado. A espectroscopia é utilizada para investigar a estrutura das moléculas através das medidas precisas da posição do pico de determinado metabólito. In vivo, a espectroscopia é uma combinação de imagem e espectro utilizando gradientes em um pequeno volume de um determinado tecido<sup>65</sup>.

Os dados são demonstrados como uma linha de espectro com a área abaixo do pico dos metabólitos representando o número relativo do núcleo detectado em partes por milhão (ppm)<sup>65</sup>. O pico da gordura IMCL é 1,3-1,4ppm; EMCL 1,5-1,6ppm; Cr total (creatina livre + fosfocreatina) 3,0ppm; TMA (carnitina +colina) 3,2ppm; água 4,7ppm<sup>66</sup>. As gorduras são metabolicamente diferentes, sendo que a IMCL serve como substrato energético para o metabolismo oxidativo e pode ser mobilizada e usada durante muitas horas<sup>67</sup>, é mais dinâmica e atinge um equilíbrio mais rápido com a utilização de substrato e suprimento<sup>68</sup>. A gordura EMCL, localizada entre as fibras musculares, ou seja, nos adipócitos, é metabolicamente

inerte, possui um metabolismo lento e serve como depósito de gordura a longo prazo<sup>67</sup>. Para avaliação dos metabólitos, os músculos mais comumente estudados são o tibial anterior e sóleo (Figura 2), devido ao fato do sinal da gordura IMCL, pela espectroscopia, ser dependente da orientação das fibras musculares e, especificamente, estes dois grupos musculares permitirem esta distinção<sup>68</sup>. O músculo tibial anterior é o músculo ideal para investigar os níveis de gordura IMCL<sup>69</sup>. Por ser fixado na tibia adjacente, permite uma melhor imobilização durante a aquisição das imagens e conseqüentemente uma avaliação mais precisa dos metabólitos a ser analisados<sup>69</sup>.



**Figura 2.** Imagem por ressonância magnética da perna direita. Corte transversal demonstrando a localização dos músculos tibial anterior e sóleo.

O sinal atribuído da gordura IMCL origina-se do núcleo que é distribuído homogeneamente, não em escala microscópica, mas em escala milimétrica comparável com as dimensões do voxel<sup>69</sup>. O voxel corresponde

ao volume de tecido, em  $\text{cm}^3$ , escolhido para adquirir a espectroscopia<sup>65</sup>.

Como resultado desta distribuição espacial homogênea do metabólito, a intensidade do sinal da gordura IMCL e da Cr total não se modifica com pequenas alterações do voxel<sup>69</sup>. Entretanto, a gordura EMCL está concentrada em estruturas, como as fáscias, e a intensidade do sinal da espectroscopia é extremamente dependente da exata localização do voxel<sup>70</sup>. Qualquer mudança no tamanho do voxel pode modificar a amplitude do sinal da gordura EMCL<sup>69</sup>. A amplitude de sinal do EMCL não é um indicador representativo do conteúdo de gordura EMCL no músculo<sup>69</sup>. Desta forma, um voxel posicionado em uma pessoa obesa pode ter um sinal menor de EMCL em relação a um voxel colocado na gordura subcutânea de um atleta magro<sup>69</sup>.

De acordo com a análise histológica, o músculo sóleo possui fibras tipo I, ou seja, fibras de contração lenta e com alto poder oxidativo, enquanto que o músculo tibial anterior possui fibras tipo II, que são consideradas rápidas e com alto poder glicolítico<sup>70</sup>.

Estudos utilizando imuno-histoquímica mostraram um aumento nos níveis de IMCL três vezes maiores no músculo sóleo, quando comparado ao tibial anterior<sup>71</sup>. Isso sugere que o IMCL esteja relacionado com a função oxidativa nos músculos. A razão IMCL/água no músculo sóleo é maior do que no tibial anterior<sup>70</sup>.

Muitos estudos têm sugerido que a quantificação da gordura IMCL obtida com a espectroscopia do hidrogênio é um marcador confiável de resistência à insulina em indivíduos saudáveis, obesos e/ou diabéticos tipo

2<sup>72</sup>. A elevada concentração de IMCL em músculo com fibras lentas e oxidativas está relacionada com resistência à insulina<sup>73</sup>. Além de pacientes com diabetes tipo 2, o acúmulo de IMCL também pode ser observado em pacientes idosos, e isso ocorre devido à diminuição da capacidade oxidativa mitocondrial<sup>74</sup>. A via apoptótica e o metabolismo energético celular são os maiores determinantes da sobrevivência celular, sugerindo uma importante inter-relação existente entre apoptose e função mitocondrial<sup>75</sup>.

Resultados de estudos prévios sugerem mudanças nas concentrações de IMCL, após o exercício, e acúmulo de IMCL no músculo de indivíduos que não praticam atividade física durante estados fisiológicos de aumento de ácidos graxos no plasma<sup>76</sup>. A atividade física aumenta a quantidade de gordura IMCL, o estoque de glicogênio, a capacidade oxidativa, densidade capilar e a sensibilidade à insulina<sup>77,78</sup>. Durante o exercício físico prolongado, o músculo esquelético utiliza o IMCL como substrato suplementar ao glicogênio<sup>78</sup>. Estudo descrito por Goodpaster e colaboradores sugere que pacientes obesos e sedentários, com ou sem diabetes tipo 2, possuem significativamente um maior conteúdo de IMCL em relação a pacientes com peso normal<sup>79</sup>.

A gordura IMCL está presente em mais de um compartimento, porém não é possível avaliar a distribuição espacial e concentração absoluta da gordura pela técnica da espectroscopia<sup>78</sup>. A gordura IMCL, em atletas, pode estar localizada em compartimentos diferentes em relação a pacientes obesos e com resistência à insulina<sup>78</sup>.

Desta forma, são inúmeras as aplicações do método de EHRM para



avaliação do comportamento metabólico no músculo esquelético de pacientes em diferentes condições clínicas.

O interesse em se estudar, metabolicamente e de forma não invasiva, a toxicidade muscular causada pelas estatinas é muito grande. Estudo recente descrito por Wu e colaboradores, utilizando espectroscopia do fósforo (P-31) por ressonância magnética em pacientes em uso de estatina apresentando ou não mialgia, sugere que ocorra uma alteração na fosforilação oxidativa e diminuição da síntese de ATP na mitocôndria com consequente prolongamento do tempo de recuperação metabólica da fosfocreatina (PCr) no músculo esquelético<sup>80</sup>.

Assim, de acordo com modelos prévios de utilização da EHRM, desenvolvemos um protocolo de fácil manuseio e análise para avaliar metabolicamente a toxicidade muscular desencadeada pelas estatinas.

## **2. Objetivos**

---

Os objetivos do estudo foram:

**1- Objetivo Primário:**

Avaliar as concentrações das gorduras IMCL e EMCL, Cr total e TMA, nos músculos tibial anterior e sóleo, nos pacientes em uso de estatina e com toxicidade muscular e comparar com indivíduos hipercolesterolêmicos ( $LDL \geq 160 \text{mg/dL}$ ) e normocolesterolêmicos ( $LDL < 160 \text{mg/dL}$ ), ambos sem tratamento. Além disso, fazer uma correlação entre os níveis de CPK destes pacientes com os parâmetros da espectroscopia.

**2- Objetivos Secundários:**

**2.1-** Avaliar quantitativamente a presença de gordura IMCL em pacientes com hipercolesterolemia, sem medicação hipolipemiante e comparar com indivíduos normocolesterolêmicos (grupo controle).

**2.2-** Avaliar o efeito do tratamento com estatinas sobre o colesterol plasmático (após três meses) e nas concentrações das gorduras IMCL e EMCL.

**2.3-** Avaliar sintomas, alteração de CPK e parâmetros da espectroscopia no grupo de pacientes hipercolesterolêmicos, após tratamento com estatinas, e comparar com grupo apresentando sintomas musculares em uso de estatinas.

### **3. Métodos**

---

### 3.1 Casuística

Foram incluídos 91 pacientes de fevereiro de 2007 a outubro de 2010, sendo 54 mulheres e 37 homens, sem manifestação prévia de doenças cardiovasculares, com idade entre 18 e 65 anos e média de 44 anos, que aceitaram assinar o termo de consentimento pós-informado para participar desta pesquisa. O estudo e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foram aprovados pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq), em sessão de 13 de setembro de 2006, sob o número 879/06.

Os pacientes foram divididos em três grupos (Tabela 3):

1. Controle (LDL colesterol < 160mg/dL) sem estatina (n=49);
2. Em uso de estatinas com sintomas musculares, independente dos níveis de CPK (n=18);
3. LDL colesterol  $\geq$ 160mg/dL, sem estatina (n= 24).

**Tabela 3.** Grupos de pacientes

Grupos	Número de Pacientes
1 –Controle(LDL colesterol<160mg/dL) sem estatina	49
2 –Em uso de estatina com sintomas musculares	18
3 - (LDL colesterol $\geq$ 160mg/dL) sem estatina	24

Este é um estudo realizado em duas etapas:

- 1- Estudo transversal: onde foram comparados os parâmetros bioquímicos e de espectroscopia nos três grupos.
- 2- Estudo longitudinal: os pacientes hipercolesterolêmicos foram tratados e, após tratamento, reavaliados quanto aos parâmetros bioquímicos e espectroscópicos.

Todos os pacientes foram selecionados e acompanhados nos ambulatórios do Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor-FMUSP).

Os critérios de exclusão utilizados no estudo foram: triglicérides >400mg/dL, prévia intolerância às estatinas, mulheres em período reprodutivo sem uso de métodos anticoncepcionais, doença hepática em atividade, hipo ou hipertireoidismo não controlados, doença neuromuscular primária ou secundária, diabetes mellitus tipo 1 e 2, uso de esteroides anabolizantes, pacientes praticantes de atividade física regular, pacientes infectados, doença vascular periférica, pacientes que apresentaram traumas físicos ou imobilização nos últimos 6 meses, uso de drogas que afetam o citocromo P450 e pacientes com creatinina sérica acima de 1,5mg/dL.

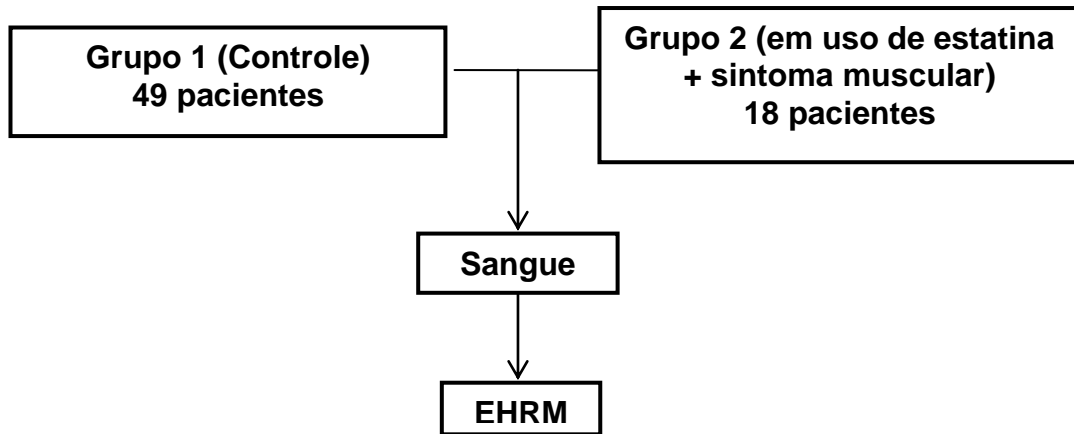
Todos os pacientes foram submetidos à coleta de sangue, após 10h de jejum, para avaliação do colesterol total e frações, triglicérides, TGO (transaminase glutâmica oxalacética), TGP (transaminase glutâmica pirúvica), CPK, glicose, TSH (hormônio tireoestimulante) e creatinina. No grupo 3, os lípides plasmáticos, CPK, TGO e TGP foram reavaliados três

meses após o início do tratamento com sinvastatina para que se pudesse ter um controle da redução do colesterol sérico e de possíveis alterações das enzimas muscular e hepática causadas pela medicação.

Após serem esclarecidas todas as dúvidas em relação ao procedimento e assinado o consentimento informado, foi realizado o exame EHRM para avaliação dos picos de gorduras IMCL e EMCL, Cr total e TMA nos músculos tibial anterior e sóleo e suas razões.

Os pacientes do grupo 2 estavam em uso de estatina há pelo menos 30 dias do início dos sintomas e a queixa era dor muscular com sensação de peso, câimbras ou fraqueza muscular localizada, principalmente, em membros inferiores. Oito pacientes apresentavam mialgia (dor muscular sem elevação da CPK) e 10 apresentavam miosite (dor muscular + CPK entre 3 e 10 vezes o LSN). Os pacientes foram assim agrupados seguindo a definição estabelecida pela American Heart Association (AHA)<sup>21</sup> e American College of Cardiology (ACC)<sup>21</sup>. Nenhum paciente apresentou rabdomiólise. Quanto à intensidade dos sintomas, dois pacientes relatavam sintomas leves e 16 apresentavam sintomas de moderada intensidade. Em relação ao tipo de estatina utilizada, quinze faziam uso de sinvastatina 20mg, dois rosuvastatina 10mg e um atorvastatina 10mg.

O grupo controle (grupo 1), ou seja, pacientes normocolesterolêmicos, foi utilizado como referência para comparar os achados laboratoriais e parâmetros da espectroscopia em relação aos grupos 2 e 3 (pré e pós-tratamento). A figura 3 demonstra o desenho do estudo para os grupos 1 e 2.



**Figura 3.** Desenho do estudo para os grupos 1 e 2.

Para poder avaliar os efeitos do tratamento com estatinas nos parâmetros laboratoriais e da espectroscopia, o grupo 3 foi estudado em dois momentos: antes do tratamento com sinvastatina 20mg e três meses após. A sinvastatina 20mg foi escolhida por se tratar de uma medicação de fácil acesso na rede pública e a mais comumente utilizada na prática clínica na ocasião<sup>81</sup>. A figura 4 demonstra o desenho do estudo para o grupo 3 (Figura 4).



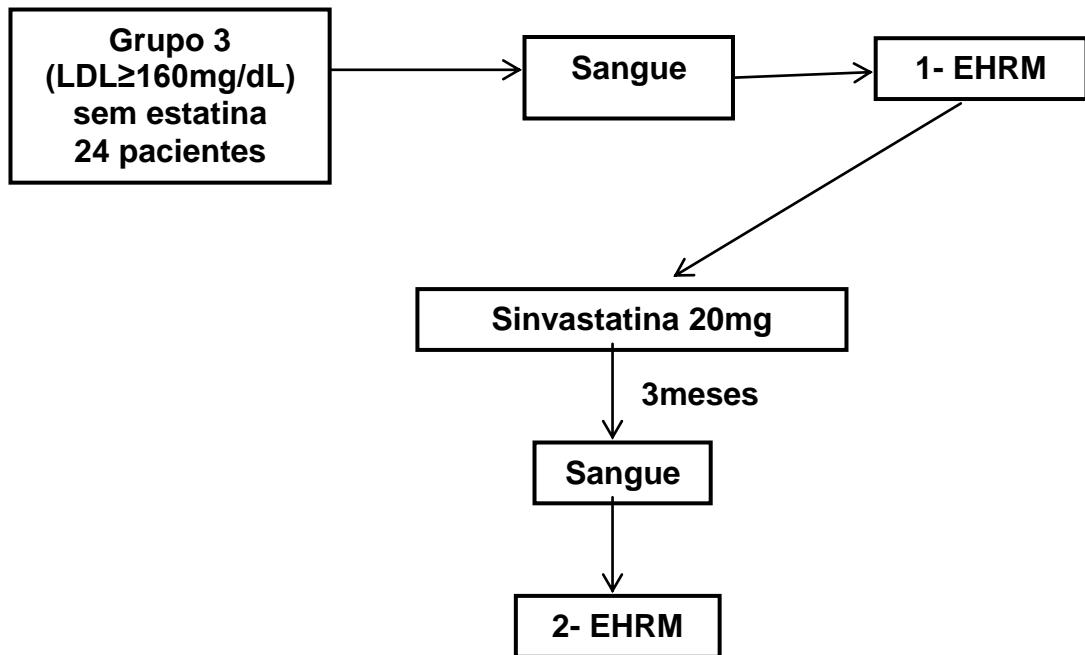


Figura 4. Desenho do estudo para o grupo 3.

## 3.2 Métodos

### 3.2.1 Técnica da espectroscopia do hidrogênio

Os exames foram realizados utilizando o aparelho de ressonância magnética SIGNA 1,5 T (Tesla) (General Electric, Milwaukee, WI, USA).

Todos os pacientes foram colocados em decúbito dorsal com uma antena de superfície sobre a perna direita, sendo que o centro da bobina localizava-se exatamente no centro dos músculos gastrocnêmio e sóleo.

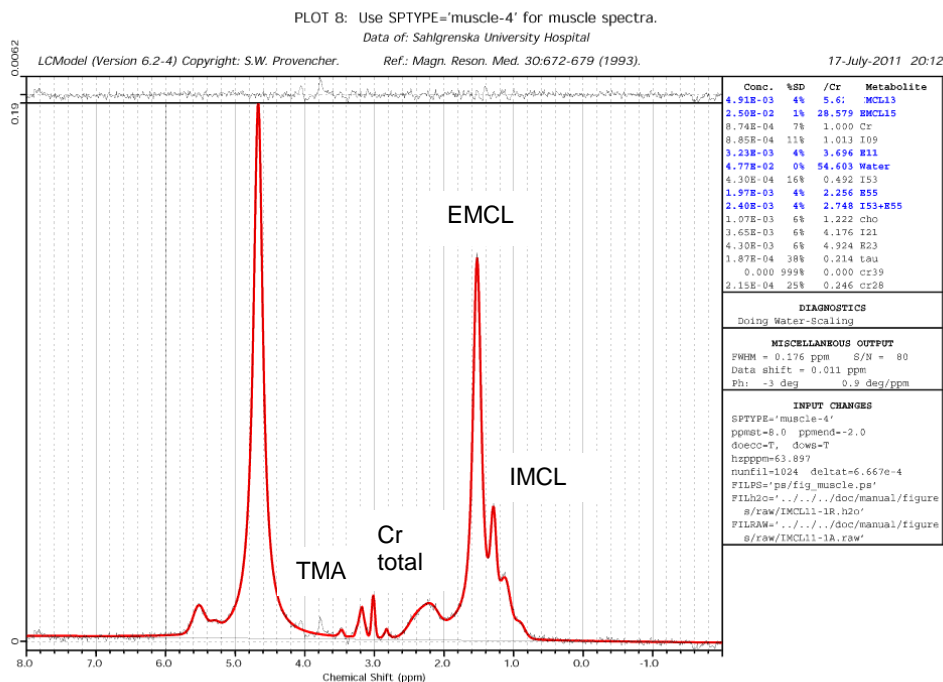
Foram obtidas inicialmente imagens localizatórias dos músculos tibial anterior e sóleo na sequência gradiente-eco com tempo de eco (TE) de

1,5ms tempo de repetição (TR) de 49ms. Em seguida foram obtidos cortes transversais utilizando imagens pesadas em T1 com 600/14ms(TR/TE), espessura de 4mm, matriz de 128 x 128. Foi colocado um voxel de 4cm<sup>3</sup> primeiramente no músculo tibial anterior e posteriormente no músculo sóleo para adquirir os espectros de hidrogênio. A técnica utilizada para localização da imagem da espectroscopia foi “single-voxel”, ou seja, o espectro é adquirido a partir de um pequeno volume de tecido definido a partir da intersecção de três planos ortogonais, e o modo de aquisição escolhido foi o “STEAM”<sup>82</sup> (stimulated echo acquisition mode). Este modo de aquisição foi escolhido com o objetivo de obter a melhor relação sinal/ruído da espectroscopia<sup>82</sup>. A calibração automática foi feita para que se pudesse obter a supressão de água e otimizar a análise dos demais metabólitos. Os parâmetros utilizados para a realização da espectroscopia foram: TR/TE 3000/25ms, 32 aquisições. A espectroscopia dos músculos tibial anterior e sóleo foi obtida em um tempo total de oito minutos.

No grupo de pacientes com LDL-C acima de 160mg/dL (grupo 3), uma vez tendo realizado o exame de espectroscopia antes e após o tratamento com estatinas, houve o cuidado de medi-los em pontos de referência anatômicos, ou seja, do platô tibial ao centro dos músculos gastrocnêmio e sóleo para posicionamento preciso da bobina nas duas etapas do protocolo. Foi utilizada também a mesma imagem transversal escolhida no primeiro exame e o mesmo tamanho do voxel, para não afetar a análise das medidas das espectroscopias e aumentar a confiabilidade do método.

### 3.2.2 Processamento das imagens e análise de dados

Após a realização do exame, as imagens foram processadas automaticamente utilizando o programa LCModel versão 6.2 (<http://s-provencher.com/>)<sup>83</sup>. Este programa analisa o espectro in vivo utilizando um modelo de combinação linear do espectro in vitro de metabólitos individuais. O software permite uma identificação precisa dos metabólitos, sendo que estes apresentam frequências de ressonância que são 1,3-1,4 ppm para o IMCL, 1,5-1,6 ppm para o EMCL, 3,0 ppm para Cr total e 3,2ppm para TMA<sup>66,84</sup> (Tabela 4). Para cada frequência de ressonância dos metabólitos identificada, é feita a quantificação das áreas, automaticamente, em relação à água<sup>83</sup>(Figura 5).



**Figura 5.** Exemplo de espectroscopia do hidrogênio do músculo tibial anterior utilizando o programa LCModel. IMCL: gordura intramiocelular; EMCL: gordura extramiocelular; Cr total: creatina total; TMA: trimetilamina.

**Tabela 4.** Frequências de ressonância dos metabólitos em partes por milhão (ppm)

Metabólito	Frequência (ppm)
IMCL	1,3 - 1,4
EMCL	1,5 - 1,6
TMA	3,2
Creatina total	3,0
H2O	4,7

A partir dos valores obtidos das áreas referentes à determinada frequência do metabólito, foram feitas as razões entre os picos de IMCL/Creatina total, EMCL/Creatina total, IMCL/TMA, EMCL/TMA, IMCL/EMCL, dos músculos tibial anterior e sóleo, para avaliação da atividade dos metabólitos em conjunto.

### **3.3 Análise estatística**

#### **3.3.1 Cálculo do tamanho amostral:**

As variáveis da espectroscopia possuem distribuição não paramétrica, portanto, utilizamos a diferença do LDL colesterol como variável de referência para o cálculo do tamanho amostral. Desta forma, considerando-se uma redução média de 30% do LDL colesterol entre os grupos avaliados com um poder de teste de 80%, nível de significância alfa de 5%, foi feito um cálculo amostral de 60 pacientes, sendo 20 pacientes em cada um dos três grupos.

As variáveis espectroscópicas possuem distribuição não paramétrica, impossibilitando calcular o tamanho amostral.

#### **3.3.2 Análise estatística**

As variáveis com distribuição normal foram apresentadas como média e desvio padrão, e as variáveis não paramétricas como mediana e percentis 25 e 75. A avaliação da distribuição dos dados foi feita usando o teste Kolmogorov- Smirnov. A comparação das variáveis com distribuição normal entre os três grupos foi feita pelo teste de ANOVA<sup>85,86</sup> e as comparações múltiplas pelo teste de Bonferroni<sup>85,86</sup>.

A comparação das variáveis com distribuição não paramétrica entre os três grupos foi feita pelo teste de Kruskal-Wallis<sup>85,86</sup> e as comparações múltiplas pelo teste de Dunn<sup>85,86</sup>.

A comparação de variáveis não paramétricas entre dois grupos independentes foi feita pelo teste de Mann-Whitney<sup>85,86</sup>. A comparação de variáveis não paramétricas no grupo em diferentes estágios foi feita pelo teste de Wilcoxon<sup>85,86</sup>. A correlação das variáveis foi feita utilizando o coeficiente de Spearman<sup>86</sup>. A análise estatística foi realizada usando os softwares Excel 2003, SAS 8.0 e SPSS 18.0.

Foram considerados como estatisticamente significativos valores de  $P < 0,05$ .

## **4. Resultados**

---

#### 4.1 Características clínicas da amostra

Foram estudados 91 pacientes e obtidos 115 exames de espectroscopia. Os pacientes do grupo 2 (mialgia + estatina) ( $55 \pm 9$  anos) eram mais velhos do que os dos grupos 1 (LDL < 160mg/dl) ( $38 \pm 11$  anos) e 3 (LDL  $\geq$  160mg/dl) ( $48 \pm 9$  anos) respectivamente,  $p < 0,001$  (Tabela 5).

Não foi encontrada diferença no índice de massa corporal (IMC kg/m<sup>2</sup>) entre os grupos 1 ( $25,7 \pm 4,8$ ), 2 ( $25,9 \pm 2,9$ ) e 3 ( $28,4 \pm 5,4$ ),  $p = 0,110$  (Tabela 5).

**Tabela 5.** Caracterização da amostra, segundo os grupos de estudo

Variável	Grupos			P(*)
	1	2	3	
Idade (anos)	$38 \pm 11,0$	$55 \pm 9,0$	$48 \pm 9,0$	$< 0,001$
Peso (Kg)	$71 \pm 15,5$	$70 \pm 11,8$	$78 \pm 17,6$	0,195
Altura (m)	$1,67 \pm 0,09$	$1,64 \pm 0,08$	$1,66 \pm 0,11$	0,739
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	$25,7 \pm 4,8$	$25,9 \pm 2,9$	$28,4 \pm 5,4$	0,110

(\*) nível descritivo de probabilidade da ANOVA. Teste de Bonferroni: O Grupo 1 difere dos Grupos 2 e 3 em relação à idade ( $p < 0,001$ ); os Grupo 2 e 3 não diferem em relação à idade ( $p = 0,185$ ).



## 4.2 Parâmetros laboratoriais

As Tabelas 6 e 7 demonstram todas as variáveis laboratoriais do estudo pré e após o tratamento com estatinas.

Houve diferença significativa entre os grupos, pré-tratamento, em relação ao colesterol total, LDL-colesterol, triglicérides e TGO (Tabela 6).

Após o tratamento, houve diferença entre os grupos em relação ao colesterol total, triglicérides, TGO e glicemia (Tabela 7). Não houve diferença no LDL colesterol entre os grupos 1, 2 e 3 após o tratamento (Tabela 7).

Não foi observada diferença significativa nos níveis de CPK entre os grupos 1, 2 e 3 (antes e após o tratamento com estatinas).

**Tabela 6.** Descrição dos parâmetros laboratoriais pré-tratamento com estatina.

Variável	Grupos			P(*)
	1	2	3(pré)	
<b>Colesterol(mg/dL)</b>	170± 28	215 ± 64	267 ± 32	< 0,001
<b>LDL- C(mg/dL)</b>	104 ± 23	128 ± 60	182 ± 22	< 0,001
<b>HDL-C(mg/dL)</b>	47 ± 10	58 ± 28	49 ± 13	0,183
<b>TG(mg/dL)</b>	80(53;104)	125(98;149)	134(97;237)	< 0,001
<b>TGO(U/L)</b>	22 ± 5	25 ± 5	27 ± 7	0,014
<b>TGP(U/L)</b>	23 ± 9	30 ± 16	29 ± 13	0,094
<b>CPK(U/L)</b>	132 ± 96	167 ± 112	132 ± 56	0,448
<b>TSH(mUI/L)</b>	2,01 ± 1	1,7 ± 0,88	2,3 ± 0,9	0,085
<b>T4L(ng/dL)</b>	1,1 ± 0,16	1,0 ± 0,14	1,1 ± 0,18	0,532
<b>Creatinina(mg/dL)</b>	0,9 ± 0,16	0,8 ± 0,18	0,9 ± 0,20	0,147
<b>Glicose(mg/dL)</b>	89 ± 8	92 ± 8	94± 10	0,052

(\*) Nível descritivo de probabilidade do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis; Grupo 1: Controle (Colesterol<160mg/dL); Grupo 2: Mialgia em uso de estatina; Grupo 3 pré: (Colesterol≥160mg/dL) pré-tratamento com estatina. Teste de Dunn: Os grupos 1, 2 e 3 diferem entre si em relação ao colesterol total ( $p<0,05$ ); o Grupo 3 difere dos Grupos 1 e 2 em relação ao LDL colesterol ( $p<0,05$ ); os Grupos 1 e 2 não diferem entre si em relação ao LDL colesterol ( $p>0,05$ ); os Grupos 1, 2 e 3 diferem entre si em relação ao triglicérides ( $p<0,05$ ); os Grupos 2 e 3 não diferem entre si em relação ao triglicérides ( $p>0,05$ ); os Grupos 1, 2 e 3 diferem entre si em relação a TGO ( $p<0,05$ ); os grupos 2 e 3 não diferem entre si em relação a TGO( $p>0,05$ ).

As variáveis estão apresentadas como média ± desvio padrão, exceto o TG (triglicérides) que está apresentado como mediana (P25;P75).

**Tabela 7.** Descrição dos parâmetros laboratoriais após tratamento com estatina.

Variável	Grupos			P(*)
	1	2	3(pós)	
<b>Colesterol(mg/dL)</b>	170± 28	215 ± 64	198± 60	0,003
<b>LDL- C(mg/dL)</b>	104 ± 23	128 ± 60	120 ± 56	0,272
<b>HDL-C(mg/dL)</b>	47 ± 10	58 ± 28	49 ± 12	0,196
<b>TG(mg/dL)</b>	80(53;104)	125(98;149)	118(88;188)	<0,010
<b>TGO(U/L)</b>	22 ± 5	25 ± 5	27 ± 9	0,003
<b>TGP(U/L)</b>	23 ± 9	30 ± 16	26 ± 14	0,102
<b>CPK(U/L)</b>	132 ± 96	167 ± 112	144 ± 52	0,129
<b>TSH(mUI/L)</b>	2,01 ± 1	1,7 ± 0,88	2,2 ± 1	0,310
<b>T4L(ng/dL)</b>	1,1 ± 0,16	1,0 ± 0,14	1,0 ± 0,12	0,605
<b>Creatinina(mg/dL)</b>	0,9 ± 0,16	0,8 ± 0,18	0,99 ± 0,2	0,499
<b>Glicose(mg/dL)</b>	89 ± 8	92 ± 8	94 ± 9	0,035

(\*)Nível descritivo de probabilidade do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis; Grupo 1: Controle (Colesterol<160mg/dL); Grupo 2: Mialgia em uso de estatina; Grupo 3 após: (Colesterol≥160mg/dL) após tratamento com estatina. Teste de Dunn: O Grupo 1 difere do Grupo 2 em relação ao colesterol total ( $p<0,05$ ); o Grupo 2 não difere do grupo 3 em relação ao colesterol total ( $p>0,05$ ); os Grupos 1, 2 e 3 diferem em relação ao triglicérides ( $p<0,05$ ); os grupos 2 e 3 não diferem entre si em relação ao triglicérides ( $p>0,05$ ); o Grupo 1 não difere do grupo 2 em relação a TGO ( $p>0,05$ ); o Grupo 1 difere do Grupo 3 em relação a TGO ( $p>0,05$ ); os Grupos 2 e 3 não diferem entre si em relação a TGO ( $p>0,05$ ); o Grupo 1 não difere do Grupo 2 em relação à glicemia ( $p>0,05$ ); o Grupo 1 difere do grupo 3 em relação à glicemia ( $p<0,05$ ); os Grupos 2 e 3 não diferem entre si em relação à glicemia ( $p>0,05$ ).

As variáveis estão apresentadas como média ± desvio padrão, exceto o TG (triglicérides) que está apresentado como mediana (P25;P75).

A Tabela 8 mostra a comparação dos parâmetros laboratoriais no grupo 3 antes e após o tratamento com sinvastatina 20mg. Houve redução significativa nos níveis de colesterol total, LDL-C e triglicérides após tratamento com estatina.

**Tabela 8.** Descrição dos parâmetros laboratoriais no grupo 3 pré e pós-tratamento com estatina.

Variável	Grupo 3 (pré)	Grupo 3 (pós)	P(*)
Colesterol (mg/dL)	267±22	198±60	0,002
LDL-C (mg/dL)	182±32	120±56	0,001
HDL-C (mg/dL)	49±13	49±12	0,241
TG (mg/dL)	134(97;237)	118(88;188)	0,013
TGO (U/L)	27±7	27±9	0,475
TGP (U/L)	29±13	26±14	0,314
CPK (U/L)	132±56	144±52	0,236
TSH (mUI/L)	2,3±0,9	2,2±1	0,57
T4L (ng/dL)	1,1±0,18	1,0±0,12	0,109
Creatinina (mg/dL)	0,9±0,20	0,99±0,2	0,938
Glicemia (mg/dL)	94±10	94±0,9	0,813

(\*)Nível descritivo de probabilidade do teste não paramétrico de Wilcoxon; Grupo 3 pré: (LDL≥160mg/dL) pré-tratamento com estatina; Grupo 3 pós: (LDL≥160mg/dL) após tratamento com estatina. As variáveis estão apresentadas como média ± desvio padrão, exceto o TG (triglicérides) que está apresentado como mediana (P25;P75).

### 4.3 Avaliação dos parâmetros da espectroscopia

#### 4.3.1 Avaliação das variáveis e grupos de pacientes

As tabelas 9 e 10 demonstram as variáveis entre os grupos 1, 2 e 3 (pré-tratamento com estatinas) encontradas pela espectroscopia. Não houve diferença significativa entre as variáveis IMCL, EMCL, creatina total e TMA, assim como suas razões ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 9.** Descrição dos parâmetros das espectroscopias.

Variável	Grupos			P(*)
	1 Mediana(P25;P75)	2 Mediana(P25;P75)	3(pré) Mediana(P25;P75)	
IMCL(T)	4500(1590;64070)	1880(1232;48500)	2470(1250;64900)	0,596
EMCL(T)	267(130;6875)	195(118;4015)	144(105;4300)	0,155
Cr(T)	40600(35750;51350)	41550(34300;47700)	37700(13900;44000)	0,482
TMA(T)	12900(11450;736000)	13750(12250;671000)	12400(11000;14100)	0,226
IMCL(S)	4360(678;6765)	4600(147;9410)	3610(809;6890)	0,878
EMCL(S)	258(179;397)	344(275;430)	226(109;652)	0,414
Cr(S)	53200(32900;60400)	44550(17851;50450)	44000(20700;54500)	0,061
TMA(S)	14600(11650;18100)	15150(11550;68800)	14300(10700;21700)	0,958

(\*) nível descritivo de probabilidade do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. IMCL(T): gordura intramiocelular no músculo tibial anterior; EMCL(T): gordura extramiocelular no músculo tibial anterior; Cr (T): creatina total no músculo tibial anterior; TMA(T): trimetilamina no músculo tibial anterior; IMCL(S): gordura intramiocelular no músculo sóleo; EMCL(S): gordura extramiocelular no músculo sóleo; Cr(S): creatina total no músculo sóleo; TMA(S): trimetilamina no músculo sóleo.

#### 4.3.2 Avaliação das razões das variáveis e grupos de pacientes

**Tabela 10.** Descrição das razões das espectroscopias

Variável	Grupos			P(*)
	1 Mediana(P25;P75)	2 Mediana(P25;P75)	3 (pré) Mediana(P25;P75)	
IMCL/Cr(T)	0,13(0,05;1,75)	0,08(0,03;1,52)	0,6(0,04;2,2)	0,611
EMCL/Cr(T)	0,01(0;0,18)	0,01(0;0,23)	0,01(0;0,19)	0,985
IMCL/TMA(T)	0,14(0,09;0,67)	0,12(0,04;4,45)	0,82(0,10;5,4)	0,341
EMCL/TMA(T)	0,02(0;0,61)	0,02(0;0,23)	0,04(0,01;0,56)	0,757
IMCL/EMCL(T)	9,22(0,37;72)	13(0,23;131)	12(1,08;102)	0,764
IMCL/Cr(S)	0,1(0,03;0,17)	0,18(0,09;1,9)	0,12(0,05;1,47)	0,095
EMCL/Cr(S)	0,01(0;0,01)	0,01(0,01;0,25)	0,01(0;0,34)	0,052
IMCL/TMA(S)	0,33(0,01;0,56)	0,3(0,02;1,04)	0,35(0,10;1,1)	0,515
EMCL/TMA(S)	0,02(0;0,03)	0,02(0,01;0,11)	0,02(0,01;0,33)	0,485
IMCL/EMCL(S)	11,9(0,75;26)	15,3(0,6;24)	14(1,2;33,7)	0,766

(\*) nível descritivo de probabilidade do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. IMCL/Cr(T): razão da gordura intramiocelular e creatina total no músculo tibial anterior; EMCL/Cr(T): razão da gordura extramiocelular e creatina total no músculo tibial anterior; IMCL/TMA(T): razão da gordura intramiocelular e trimetilamina no músculo tibial anterior; EMCL/TMA(T): razão da gordura extramiocelular e trimetilamina no músculo tibial anterior; IMCL/EMCL(T): razão da gordura intramiocelular e extramiocelular no músculo tibial anterior; IMCL/Cr(S): razão da gordura intramiocelular e creatina total no músculo sóleo; EMCL/Cr(S): razão da gordura extramiocelular e creatina total no músculo sóleo; IMCL/TMA(S): razão da gordura intramiocelular e trimetilamina no músculo sóleo; EMCL/TMA(S): razão da gordura extramiocelular e trimetilamina no músculo sóleo; IMCL/EMCL(S): razão da gordura intramiocelular e extramiocelular no músculo sóleo.

### 4.3.3 Comparação das variáveis da espectroscopia nos grupos 2 e 3 (após tratamento com estatina)

A Tabela 11 mostra as comparações dos parâmetros encontrados na espectroscopia nos grupos 2 e 3 (após tratamento com estatina). Não foi observada diferença significativa nos metabólitos avaliados de forma isolada e suas razões, nos músculos tibial anterior e sóleo, entre os grupos 2 e 3 (após tratamento com estatina).

**Tabela 11.** Resultados das variáveis pela espectroscopia nos grupos 2 e 3 (após tratamento com estatina).

Variável	Grupo2 Mediana (P25;P75)	Grupo 3 (pós) Mediana(P25;P75)	P(*)
IMCL(T)	1880(1232;48500)	2980(1030;65000)	0,753
EMCL(T)	195(118;4015)	186(103;2860)	0,636
Cr(T)	41550(34300;47700)	38700(25400;49100)	0,478
TMA(T)	13750(12250;671000)	12400(10400;13900)	0,051
IMCL(S)	4600(147;9410)	3830(111;5120)	0,227
EMCL(S)	344(275;430)	217(148;503)	0,212
Cr(S)	44550(17851;50450)	47800(595;56700)	0,599
TMA(S)	15150(11550;68800)	15900(11000;23600)	0,916
IMCL/Cr(T)	0,08(0,03;1,52)	0,14(0,04;1,46)	0,528
EMCL/Cr(T)	0,01(0;0,23)	0,01(0;0,27)	0,546
IMCL/TMA(T)	0,12(0,04;4,4)	0,50(0,09;5,8)	0,270
EMCL/TMA(T)	0,02(0;0,69)	0,06(0,01;0,77)	0,180
IMCL/EMCL(T)	13,5(0,23;131)	7,5(0,25;203)	0,937
IMCL/Cr(S)	0,18(0,09;1,9)	0,10(0,06;6,9)	0,318
EMCL/Cr(S)	0,01(0,01;0,25)	0,01(0;0,40)	0,733
IMCL/TMA(S)	0,30(0,02;1,04)	0,25(0,01;0,58)	0,431
EMCL/TMA(S)	0,02(0,01;0,11)	0,02(0,01;0,54)	0,713
IMCL/EMCL(S)	15,3(0,60;24)	7,4(0,62;21,8)	0,618

(\*) nível descritivo de probabilidade do teste não paramétrico de Mann-Whitney. IMCL(T): gordura intramiocelular no músculo tibial anterior; EMCL(T): gordura extramiocelular no músculo tibial anterior; Cr (T): creatina total no músculo tibial anterior; TMA(T): trimetilamina no músculo tibial anterior; IMCL(S): gordura intramiocelular no músculo sóleo; EMCL(S): gordura extramiocelular no músculo sóleo; Cr(S): creatina total no músculo sóleo; TMA(S): trimetilamina no músculo sóleo; IMCL/Cr(T): razão da gordura intramiocelular e creatina total no músculo tibial anterior; EMCL/Cr(T): razão da gordura extramiocelular e creatina total no músculo tibial anterior; IMCL/TMA(T): razão da gordura intramiocelular e trimetilamina no músculo tibial anterior; EMCL/TMA(T): razão da gordura extramiocelular e trimetilamina no músculo tibial anterior; IMCL/EMCL(T): razão da gordura intramiocelular e extramiocelular no músculo tibial anterior; IMCL/Cr(S): razão da gordura intramiocelular e creatina total no músculo sóleo; EMCL/Cr(S): razão da gordura extramiocelular e creatina total no músculo sóleo; IMCL/TMA(S): razão da gordura intramiocelular e trimetilamina no músculo sóleo; EMCL/TMA(S): razão da gordura extramiocelular e trimetilamina no músculo sóleo; IMCL/EMCL(S): razão da gordura intramiocelular e extramiocelular no músculo sóleo.

#### 4.3.4. Avaliação das variáveis da espectroscopia antes e três meses após o tratamento com estatina

A Tabela 12 mostra as comparações dos parâmetros encontrados na espectroscopia antes e três meses após o tratamento com 20mg de sinvastatina nos pacientes do grupo 3. Apesar da redução dos níveis de LDL-C, nenhuma redução significativa foi observada nos parâmetros da espectroscopia e suas razões nos músculos tibial anterior e sóleo.

**Tabela 12.** Resultados das variáveis pela espectroscopia no grupo 3 antes e após tratamento com estatina

Variável	Grupo 3(pré) Mediana (P25;P75)	Grupo 3(pós) Mediana (P25;P75)	P(*)
IMCL(T)	2470(1250;64900)	2980(1030;65000)	0,563
EMCL(T)	144(105;4300)	186(103;2860)	0,523
Cr(T)	37700(13900;44000)	38700(25400;49100)	0,927
TMA(T)	12400(11000;14100)	12400(10400;13900)	0,988
IMCL(S)	3610(809;6890)	226(109;652)	0,693
EMCL(S)	226(109;652)	217(148;503)	0,543
Cr(S)	44000(20700;54500)	47800(595;56700)	0,808
TMA(S)	14300(10700;21700)	15900(11000;23600)	0,939
IMCL/Cr(T)	0,60(0,04;2,2)	0,14(0,04;1,4)	0,976
EMCL/Cr(T)	0,01(0;0,19)	0,01(0;0,27)	0,584
IMCL/TMA(T)	0,82(0,10;5,45)	0,50(0,09;5,8)	0,362
EMCL/TMA(T)	0,04(0,01;0,56)	0,06(0,01;0,77)	0,136
IMCL/EMCL(T)	12(1,0;102,3)	7,5(0,25;203)	0,858
IMCL/Cr(S)	0,12(0,05;1,4)	0,10(0,06;6,9)	0,903
EMCL/Cr(S)	0,01(0;0,34)	0,01(0;0,40)	1,000
IMCL/TMA(S)	0,35(0,10;1,1)	0,25(0,01;0,58)	0,648
EMCL/TMA(S)	0,02(0,01;0,33)	0,02(0,01;0,54)	0,855
IMCL/EMCL(S)	14(1,2;33)	7,4(0,62;21)	0,322

(\*) nível descritivo de probabilidade do teste não paramétrico de Wilcoxon. IMCL(T): gordura intramiocelular no músculo tibial anterior; EMCL(T): gordura extramiocelular no músculo tibial anterior; Cr (T): creatina total no músculo tibial anterior; TMA(T): trimetilamina no músculo tibial anterior; IMCL/Cr(T): razão da gordura intramiocelular e creatina total no músculo tibial anterior; EMCL/Cr(T): razão da gordura extramiocelular e creatina total no músculo tibial anterior; IMCL/TMA(T): razão da gordura intramiocelular e trimetilamina no músculo tibial anterior; EMCL/TMA(T): razão da gordura extramiocelular e trimetilamina no músculo tibial anterior; IMCL/EMCL(T): razão da gordura intramiocelular e extramiocelular no músculo tibial anterior; IMCL(S): gordura intramiocelular no músculo sóleo; EMCL(S): gordura extramiocelular no músculo sóleo; Cr(S): creatina total no músculo sóleo; TMA(S): trimetilamina no músculo sóleo; IMCL/Cr(S): razão da gordura intramiocelular e creatina total no músculo sóleo; EMCL/Cr(S): razão da gordura extramiocelular e creatina total no músculo sóleo; IMCL/TMA(S): razão da gordura intramiocelular e trimetilamina no músculo sóleo; EMCL/TMA(S): razão da gordura extramiocelular e trimetilamina no músculo sóleo; IMCL/EMCL(S): razão da gordura intramiocelular e extramiocelular no músculo sóleo.

### 4.3.5 Correlação dos valores da CPK e as variáveis da espectroscopia

Em relação aos valores de CPK e os resultados encontrados nas espectroscopias dos pacientes do grupo 2, observamos uma correlação positiva e significativa entre a análise sérica da CPK e a razão da gordura IMCL e creatina no músculo tibial anterior (Tabela 13).

**Tabela 13.** Correlação da CPK sérica e as razões entre as gorduras IMCL e EMCL e creatina total nos músculos tibial anterior e sóleo no grupo 2.

		Cr(T)	Cr(S)	IMCL/Cr(T)	EMCL/Cr(T)	IMCL/Cr(S)	EMCL/Cr(S)
CPK	r	-0,194	0,068	0,253	-0,027	-0,017	-0,164
	p	0,070	0,528	0,018	0,804	0,876	0,128

Valores dos coeficientes de correlação de Spearman; CPK: creatinofosfoquinase; Cr(T): creatina total no músculo tibial anterior; Cr(S): creatina total no músculo sóleo; IMCL/Cr(T): razão da gordura intramiocelular e creatina total no músculo tibial anterior; EMCL/Cr(T): razão da gordura extramiocelular e creatina total no músculo tibial anterior; IMCL/Cr(S): razão da gordura intramiocelular e creatina total no músculo sóleo; EMCL/Cr(S): razão da gordura extramiocelular e creatina total no músculo sóleo.

### 4.3.6 Avaliação da gordura IMCL nos músculos tibial anterior e sóleo

Ao se avaliar a quantidade de gordura IMCL, observou-se uma maior quantidade no músculo sóleo em relação ao tibial anterior ( $p < 0,001$ ) (Tabela 14).



**Tabela 14.** Comparação da gordura IMCL nos músculos tibial anterior e sóleo para os três grupos

Variável	n	Mediana (P25;P75)	P (*)
<b>IMCL T</b>	91	2660 (1307;60660)	0,010
<b>IMCL S</b>	91	4335 (207;6912)	

(\*) nível descritivo de probabilidade do teste não paramétrico de Wilcoxon; IMCL(T)- gordura intramiocelular no músculo tibial anterior; IMCL(S)- gordura intramiocelular no músculo sóleo.

## **5. Discussão**

---

Este estudo utilizou a espectroscopia do hidrogênio por ressonância magnética para avaliar, de forma não invasiva, sua aplicabilidade no diagnóstico da toxicidade muscular causada pelas estatinas. Através de um protocolo específico de análise de dados pode-se avaliar as gorduras IMCL e EMCL, além dos metabólitos Cr total e TMA presentes nos músculos tibial anterior e sóleo. Nenhum estudo até o momento, utilizando a espectroscopia do hidrogênio por ressonância magnética, avaliou a creatina total em pacientes tratados com estatinas, apresentando sintomas musculares, e as gorduras IMCL e EMCL em pacientes hipercolesterolêmicos antes e após o uso de medicação hipolipemiante.

### **5.1 Espectroscopia como auxílio diagnóstico na miotoxicidade**

A utilização da EHRM associada à avaliação laboratorial da enzima CPK em pacientes em uso de estatina e apresentando sintomas musculares é uma abordagem recente e descrita primeiramente neste estudo. Entre as principais características positivas do método, podemos ressaltar a praticidade e curto tempo para realização (aproximadamente 8 minutos), não sendo necessária a utilização de contraste endovenoso e muito menos radiação ionizante.

Este protocolo foi desenvolvido com o intuito de permitir sua aplicação efetiva na prática clínica. Por ser um exame simples, é possível ser executado em aparelhos de ressonância magnética de 1,5 Tesla, que são frequentemente encontrados em grandes serviços de diagnósticos por

imagem. O software utilizado neste protocolo, LCModel<sup>83</sup>, permite uma avaliação automática e precisa dos valores dos metabólitos em relação à água.

A espectroscopia do hidrogênio por ressonância magnética foi adotada para permitir uma avaliação complementar à dosagem da CPK, que muitas vezes pode não estar alterada na vigência de sintomas musculares.

## **5.2 Avaliação dos parâmetros encontrados na espectroscopia**

A eficácia das estatinas na prevenção secundária da aterosclerose está associada à redução das taxas de eventos cardiovasculares maiores, eventos cerebrovasculares e à mortalidade total<sup>87</sup>. A patogenia da toxicidade muscular causada por essa medicação não é bem conhecida, embora alguns estudos proponham que ocorra uma alteração da permeabilidade da membrana muscular e necrose das fibras, sem a ocorrência de infiltrados celulares<sup>60</sup>. A inibição da HMG-CoA redutase pelas estatinas vem sendo apontada como principal causa de miotoxicidade<sup>88</sup>.

A análise da toxicidade muscular às estatinas pela EHMR pode ser prejudicada devido a fatores técnicos, metodologia para a análise dos dados, atividade física individual e medicação em uso, levando a variações na quantificação dos metabólitos. Os pacientes incluídos neste estudo seguiram rigorosamente os critérios de exclusão estabelecidos no protocolo e a técnica utilizada para realização da espectroscopia foi adaptada para a

máquina de ressonância da instituição seguindo os parâmetros descritos na literatura<sup>66</sup>.

A metabolização das estatinas pode ser modificada pela presença de fatores clínicos associados, idade e composição corporal, ou seja, predomínio de massa magra ou não. Apenas um estudo com atorvastatina demonstrou que a relação das estatinas com toxicidade, definida pelo nível de CPK, foi encontrada principalmente em indivíduos jovens (19 a 35 anos)<sup>89</sup>. A hipótese dos autores foi devido à maior proporção de massa muscular e conseqüente maior liberação de CPK<sup>89</sup>. Em nosso estudo, a média de idade dos pacientes em uso de estatina e apresentando mialgia foi de 55 anos, ou seja, valores acima dos encontrados neste relato da literatura. Outros estudos mostram que a idade acima de 65 anos é considerada um fator endógeno de predisposição para o desenvolvimento de miotoxicidade com estatina<sup>13</sup>, provavelmente por diminuição da capacidade oxidativa mitocondrial que pode ocorrer com o avanço da idade. Porém, pacientes acima desta faixa etária foram excluídos da nossa casuística.

### **5.2.1 Redução do colesterol e sua relação com o IMCL e EMCL**

As estatinas já possuem papel bem estabelecido no que diz respeito à redução dos níveis de LDL colesterol. Na casuística, a média de LDL colesterol antes e após o tratamento com estatina foi de 182mg/dL e 120mg/dL respectivamente, ou seja, houve uma redução de 34% nos níveis

séricos após três meses do uso de medicação hipolipemiante. Este é o achado esperado em uma meta de tratamento considerada eficaz, correspondendo com as expectativas clínicas e aquelas descritas na literatura com as doses administradas<sup>6</sup>. A análise espectroscópica das gorduras IMCL e EMCL nos músculos estudados não evidenciou redução após o tratamento com estatinas. Provavelmente, o tempo de tratamento estabelecido em três meses pode não ter sido suficiente para que houvesse uma redução significativa da gordura presente nos miócitos e adipócitos avaliados pelos metabólitos IMCL e EMCL, respectivamente. Por outro lado, apesar da estatina utilizada (dose de 20mg) ter sido eficaz na redução dos níveis séricos, não foi possível detectar alterações das gorduras IMCL e EMCL.

### **5.2.2 Deficiência de carnitina e espectroscopia**

Os estudos com animais descrevem a deficiência de carnitina plasmática associada ao quadro de miotoxicidade<sup>90</sup>. Os valores de TMA referem-se aos metabólitos carnitina e colina, encontrados nos músculos tibial anterior e sóleo, e não apresentaram diferença significativa entre os grupos avaliados. Este resultado não nos permite analisar separadamente a carnitina e colina e, conseqüentemente, avaliar se houve alguma alteração nos níveis do metabólito carnitina, sugerindo uma possível relação com a miotoxicidade causada pela estatina.

### 5.2.3 Relação dos metabólitos encontrados pela espectroscopia e a CPK

A CPK pode ser utilizada clinicamente como um marcador de gravidade do dano muscular causado pela estatina<sup>91-93</sup>. Entretanto, a presença de lesão muscular pode ou não ser acompanhada pelo aumento da CPK<sup>60,93,94</sup>, apesar de sabermos que as estatinas podem alterar a arquitetura da miofibrila com quebra do sistema tubular T e ruptura do sarcolema<sup>60,61</sup>. A mialgia causada por esta medicação, na ausência de elevação da CPK, ocorre em 1-5% dos pacientes<sup>29</sup>. Mialgia com pequena ou moderada elevação do nível de CPK (3 a 10 vezes o LSN) ocorre em menos de 1% dos casos<sup>92,94</sup>. Em geral, a miopatia confirmada pela CPK acima de 10 vezes o LSN ocorre em menos de 0,1% dos pacientes em monoterapia<sup>92-94</sup>. Na casuística, o valor mais alto de CPK encontrado entre os 18 pacientes em uso de estatina e que apresentavam dor muscular foi de 500U/L, com média de 167U/L. Oito pacientes (44,44%) apresentavam níveis de CPK dentro do valor considerado normal (valor de referência normal pelo laboratório do InCor: 26-192U/L). Enquanto que 10 (55,56%) pacientes apresentavam CPK entre 3 a 10 vezes o LSN, nenhum paciente apresentava níveis de CPK acima de 10 vezes o LSN. A estatina utilizada por 15 pacientes incluídos foi sinvastatina na dose de 20mg, um paciente utilizava atorvastatina 10mg, enquanto que dois pacientes faziam uso de rosuvastatina 10mg. Os valores da CPK encontrados foram 33U/L-500U/L para a sinvastatina, 130U/L para a atorvastatina e 200U/L-215U/L para

rosuvastatina. Todos os pacientes com sintomas musculares não faziam uso de fibratos, o que poderia potencializar o efeito das estatinas. O número de pacientes incluídos neste subgrupo durante o período de três anos deve-se ao fato dos critérios de exclusão terem sido muito rigorosos.

Pudemos observar que, nos casos em que houve aumento da CPK sérica, esta alteração apresentou uma fraca correlação, porém positiva e significativa com a razão da gordura intramiocelular e creatina total no músculo tibial anterior, ou seja, quanto maior a CPK maior a razão IMCL/Cr total. Esta razão aumentada pode sugerir uma diminuição da creatina total devido à maior liberação da mesma, ou seja, creatina livre + fosfocreatina, que pode ter ocorrido em decorrência da diminuição da produção de ATP e consequente alteração na função oxidativa mitocondrial causada pela estatina. Não foi observada correlação semelhante na avaliação do músculo sóleo. Esta alteração na razão IMCL/Cr total encontrada no músculo tibial anterior pode ser explicada devido à característica histológica da fibra muscular, ou seja, o predomínio de fibras rápidas e glicolíticas, determinando um comprometimento metabólico precoce neste músculo em relação ao sóleo. Esta correlação encontrada entre a CPK e IMCL/Cr total pode sugerir uma manifestação precoce de provável dano muscular causado pelo uso de estatina.

Os pacientes que apresentavam mialgia estavam em uso de estatina há, pelo menos, 30 dias e faziam uso de doses mais baixas de estatinas, diferentemente do estudo PRIMO que descreve sintomas com doses maiores de medicação<sup>28</sup>. Os dados encontrados sugerem que mesmo



baixas doses de estatina podem ser suficientes para que ocorra alguma manifestação clínica, com níveis de CPK ainda normais ou pouco elevados. Além disso, apesar da queixa de mialgia, a eventual presença de níveis mais baixos de CPK na amostra possa explicar a ausência de alterações substanciais nos parâmetros espectroscópicos, havendo somente uma fraca correlação entre a CPK e a razão da gordura intramiocelular e creatina total no músculo tibial anterior ( $r=0,25$  e  $p=0,018$ ).

Os pacientes do grupo 3, após tratamento com sinvastatina 20mg, não apresentaram sintomas musculares durante o uso da medicação e a média da CPK foi de 144U/L. Além disso, não houve alteração nos parâmetros da espectroscopia quando comparados com pacientes que faziam uso de estatina e apresentavam dor muscular.

Sendo assim, os achados deste estudo sugerem que a EHRM não detectou diferenças metabólicas em pacientes em uso de estatinas, apresentando ou não sintomas musculares.

#### **5.2.4 IMCL e EMCL nos músculos tibial anterior e sóleo**

A quantidade de gordura IMCL é maior no músculo sóleo em relação ao tibial anterior, e isto se deve a suas características histológicas. O músculo sóleo apresenta fibras mais lentas e oxidativas em comparação ao músculo tibial anterior com fibras rápidas e glicolíticas<sup>70</sup>. Estudos descrevem um aumento da gordura IMCL do músculo tibial em pacientes idosos<sup>74</sup>, por

apresentarem uma diminuição na capacidade oxidativa mitocondrial. Além disso, pacientes diabéticos tipo 2<sup>74</sup>, obesos<sup>79</sup> e praticantes de atividade física regular<sup>77</sup> também podem apresentar aumento da gordura IMCL. Porém este perfil de pacientes fazia parte dos critérios de exclusão estabelecidos no protocolo e foram rigorosamente seguidos.

Neste estudo, observamos um aumento nos níveis de IMCL no músculo sóleo em relação ao tibial anterior, e estes achados são semelhantes aos descritos na literatura<sup>70</sup>.

### **5.3 Implicações clínicas**

A utilização de um exame não invasivo, rápido, de fácil realização e análise pode ser uma importante ferramenta na avaliação da toxicidade muscular causada pelo uso das estatinas. Os achados deste estudo mostram uma correlação entre a CPK e o parâmetro da espectroscopia (IMCL/Cr total) em pacientes tomando estatinas e apresentando sintomas musculares. Este achado pode sugerir uma manifestação precocemente encontrada de provável dano muscular causado pelo uso de estatina.

Por outro lado, embora a EHRM permita uma avaliação metabólica, não foi encontrada diferença nas razões dos metabólitos avaliados entre os grupos estudados e no grupo de pacientes hipercolesterolêmicos antes e após o tratamento com estatinas.

## 5.4 Limitações

O presente estudo está embasado em dados obtidos por meio da inclusão de pacientes de um único centro.

A amostra de pacientes do grupo que apresentava sintomas musculares foi pequena, devido ao fato dos critérios de inclusão terem sido muito rigorosos. As doses de estatinas utilizadas foram baixas e os níveis de CPK não se apresentaram tão elevados, nos pacientes com miosite, a ponto de poder evidenciar alterações mais consistentes nos parâmetros metabólicos avaliados por meio da espectroscopia. Além disso, não tivemos pacientes apresentando rabdomiólise, ou seja, níveis de CPK acima de 10 vezes o LSN, o que poderia talvez evidenciar uma possível alteração nos metabólitos avaliados e suas razões.

A dose de estatina utilizada no grupo 3, apesar de reduzir de forma eficaz os níveis séricos de colesterol, não ocasionou diminuição nas gorduras IMCL e EMCL. Estudos adicionais serão necessários para avaliar o impacto do tratamento em longo prazo nos níveis de gordura celular.

Por fim, o protocolo de avaliação foi desenvolvido utilizando somente a espectroscopia do hidrogênio. Desta forma, a associação com a espectroscopia do fósforo poderia permitir fazer uma análise complementar das principais alterações encontradas na produção de ATP e fosfocreatina no tecido muscular causadas pelo uso de estatinas, em pacientes com sintomas musculares, independente dos valores da CPK. Porém, não estava disponível este método de análise na ressonância da instituição.

Dessa maneira, estudos adicionais são de extrema importância para validação dos dados encontrados neste projeto.

## **6. Conclusões**

---

**6.1.**A EHRM é um exame factível para ser utilizado na prática clínica, porém não foi possível demonstrar alterações nas concentrações dos metabólitos nos músculos tibial anterior e sóleo entre os grupos estudados. Os achados de correlações entre a CPK e IMCL/Cr total podem sugerir uma manifestação precoce de toxicidade muscular causada pelas estatinas, em pacientes com sintomas musculares.

**6.2.**Não foi observada diferença significativa na gordura IMCL de pacientes com hipercolesterolemia, sem medicação hipolipemiante, quando comparados com os indivíduos normocolesterolêmicos (grupo controle).

**6.3.**O tratamento com estatinas ocasionou diminuição sérica do LDL colesterol, porém não houve alteração nas gorduras IMCL e EMCL presentes nos músculos tibial anterior e sóleo avaliados pela espectroscopia.

**6.4.**Não houve aparecimento de sintomas, nem foram detectadas diferenças significantes nos parâmetros da espectroscopia e nos níveis da CPK nos pacientes hipercolesterolêmicos após tratamento com estatinas. Não foram detectadas alterações dos parâmetros da espectroscopia entre os pacientes hipercolesterolêmicos, após tratamento com estatinas, e os pacientes com sintomas musculares em uso de estatinas.

## **7. Anexos**

---

**ANEXO A: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****I- 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 (.....).....

**II- DADOS SOBRE A PESQUISA**

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA “**Estudo da toxicidade muscular pelo uso de estatinas em pacientes hipercolesterolêmicos: avaliação pela espectroscopia do hidrogênio por ressonância magnética**”

PESQUISADOR : Cíntia de Souza Lima Moraes

CARGO/FUNÇÃO: Médica estagiária do setor de tomografia e ressonância cardiovascular do InCor-HC/FMUSP

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 94833

UNIDADE DO HCFMUSP: divisão de diagnóstico por imagem do InCor-HC (FMUSP)

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO	X	RISCO MÉDIO	<input type="checkbox"/>
RISCO BAIXO	<input type="checkbox"/>	RISCO MAIOR	<input type="checkbox"/>

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 48 meses



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

### III- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

#### 1 – Desenho do estudo e objetivo(s):

As estatinas são medicações utilizadas para abaixar a quantidade de colesterol no sangue ajudando a prevenir doenças cardíacas. As complicações causadas pelo uso de tais medicações são muito pequenas, porém alguns pacientes podem apresentar, durante o tratamento, dor muscular ou aumento de uma enzima muscular chamada CPK. Os objetivos dessa pesquisa são avaliar a quantidade de gordura nas fibras musculares e determinar se há alguma alteração no músculo de pacientes que fazem o uso de medicações para abaixar o colesterol, por meio de um exame de ressonância magnética chamado espectroscopia.

Por meio deste exame será possível verificar a quantidade de gordura dentro do músculo e avaliar se existe algum comprometimento muscular pelo uso da medicação. A participação é totalmente voluntária e você pode se recusar a participar do estudo a qualquer momento, ou sair do mesmo, sem perder quaisquer benefícios ou tratamento nesta instituição.

Caso sejam detectadas alterações precoces na musculatura devido ao uso da medicação para abaixar o colesterol, seu médico discutirá com você qual o melhor tratamento a ser instituído, o que poderá ser benéfico no seu caso.

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

Para esse exame você será colocado em um aparelho de ressonância magnética e sua perna será posicionada dentro da máquina para que seja avaliada a musculatura. Não é utilizado qualquer tipo de contraste, não é necessário jejum.

Você ficará posicionado imóvel no aparelho de ressonância magnética em um período de aproximadamente trinta minutos para que possam ser obtidas as imagens. O aparelho de ressonância magnética utiliza um campo magnético forte (imã) e ondas de rádio que não causam risco à sua saúde. O desconforto é apenas o barulho, porém será colocado em seus ouvidos um protetor auricular para que este seja menor. Os exames realizados durante essa pesquisa não terão custo para você.



## **8. Referências**

---

1. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet*. 1994; 344(8934):1383-9.
2. 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(20):1301-7.
3. 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(14):1001-9.
4. 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):1615-22.
5. The Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease (LIPID) Study Group. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. *N Engl J Med*. 1998; 339(19):1349-57.
6. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20536 high-risk individuals: a randomized placebo-controlled trial.

*Lancet*. 2002; 360(9326):7-22.

7. 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. Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomized controlled trial. *Lancet*. 2002; 360(9346):1623-30.
8. Sever PS, Dahlof 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 Angle-Scandinavian cardiac Outcomes Trial-Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicentre randomized controlled trial. *Lancet*. 2003; 361:1149-58.
9. ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group. The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent heart Attack trial. Major outcomes in moderately hypercholesterolemic, hypertensive patients randomized to pravastatin vs usual care: the Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to prevent Heart Attack (ALLHAT-LLT). *JAMA*. 2002; 288:1998-3007.
10. Klopstock T. Drug-induced myopathies. *Curr Opin Neurol*. 2008; 21(5):590-5.
11. Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C, Kirby A, Sourjina T, Peto R, Collins R, Simes R; Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaborators. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data

- from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet*. 2005;366(9493):1267-78.
12. Foley KA, Simpson RJ Jr, Crouse JR 3rd, et al. Effectiveness of statin titration on low-density lipoprotein cholesterol goal attainment in patients at high risk of atherogenic events. *Am J Cardiol*. 2003; 92:79–81.
  13. Joy TR, Hegele RA. Narrative review: statin-related myopathy. *Ann Intern Med*. 2009;150(12):858-68.
  14. Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN: Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA*.1998; 279(15):1200–5.
  15. Fernandez G, Spatz E, Jableki C, Phillips PS. Statin myopathy: A common dilemma not reflected in clinical trials. *Cleve Clin J Med*. 2011; 78(6): 393-403.
  16. Jackevicius CA, Mamdani M, Tu JV. Adherence with statin therapy in elderly patients with and without acute coronary syndromes. *JAMA* 2002; 288(4):462-7.
  17. Spatz ES, Canavan ME, Desai MM. From here to JUPITER: identifying new patients for statin therapy using data from the 1999-2004 National Health and Nutrition Examination Survey. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2009; 2(1):41-8.
  18. Sirvent P, Mercier J, Lacampagne A. New insights into mechanisms of statin-associated myotoxicity. *Curr Opin Pharmacol*. 2008; 8(3):333-8.
  19. Law M, Rudnicka AR. Statin safety: a systematic review. *Am J Cardiol*. 2006; 97(8A):52C–60C.

20. Hansen KE, Hildebrand JP, Ferguson EE, Stein JH. Outcomes in 45 patients with statin associated myopathy. *Arch Intern Med.* 2005; 165(22):2671-6.
21. 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. *J Am Coll Cardiol.* 2002; 40(3):567-72.
22. McKenney JM, Davidson MH, Jacobson TA, Guyton JR. National Lipid Association Statin Safety Assessment Task Force. Final conclusions and recommendations of the National Lipid Association Statin Safety Assessment Task Force. *Am J Cardiol.* 2006; 97(8A):89C–94C.
23. Baer AN, Wortmann RL. Myotoxicity associated with lipid-lowering drugs. *Curr Opin Rheumatol.* 2007; 19(1):67–73.
24. 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; 114(25):2788-97.
25. Kuncl RW. Agents and mechanisms of toxic myopathy. *Curr Opin Neurol.* 2009; 22(5):506-15.
26. Guyton JR. Benefit versus risk in statin treatment. *Am J Cardiol.* 2006; 97(8A):95C–97C.
27. Vladiutiu GD, Simmons Z, Isackson PJ, Tarnopolsky M, Peltier WL, Barboi AC, Sripathi, Wortmann RL, Phillips PS. Genetic risk factors associated with lipid-lowering drug-induced myopathies. *Muscle & Nerve,* 2006; 34(2): 153-62.

28. Bruckert E, Hayem G, Dejager S, Yau C, Bégaud B. Mild to moderate muscular symptoms with high-dosage statin therapy in hyperlipidemic patients – the PRIMO study. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2005; 19(6):403-14.
29. Thompson PD, Clarkson P, Karas RH. Statin-associated myopathy. *JAMA.* 2003; 289(13):1681-90.
30. Buettner C, Davis RB, Leveille SG, Mittleman MA, Mukamal KJ. Prevalence of musculoskeletal pain and statin use. *J Gen Intern Med.* 2008; 23(8):1182-6.
31. Backes JM, Moriarty PM, Ruisinger JF, Gibson CA. Effects of once weekly rosuvastatin among patients with a prior statin intolerance. *Am J Cardiol.* 2007; 100(3):554-5.
32. Forti N, Diament J. Efeitos indesejáveis dos hipolipemiantes: condutas na prática clínica. *Ver Assoc Med Bras.* 2008; 54(4):357-62.
33. Pennisi G, Vacante M, Russo C, Malaguarnera M. Rhabdomyolysis induced by rosuvastatin and sildenafil. *South Med J.* 2010; 103(10):1052-4.
34. Hippisley-Cox J, Coupland C. Individualising the risks of statins in men and women in England and Wales: population-based cohort study. *Heart.* 2010; 96(12): 939-47.
35. Corsini A, Bellosta S, Baetta R, Fumagalli R, Paoletti R, Bernini F. New insights into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins. *Pharmacol Ther.* 1999; 84(3):413-28.
36. Stêpien K, Tomaszewski M, Czuczwar SJ. Neuroprotective properties of statins. *Pharmacol Rep.* 2005; 57(5):561-9.



37. Pierno S, De Luca A, Tricarico D, Roselli A, Natuzzi F, Ferrannini E, Laico M, Camerino DC. Potential risk of myopathy by HMG-CoA reductase inhibitors: a comparison of pravastatin and simvastatin effects on membrane electrical properties of rat skeletal muscle fibers. *J Pharmacol Exp Ther.* 1995; 275(3): 1490-6.
38. Klopstock T. Drug-induced myopathies. *Curr Opin Neurol.* 2008; 21(5): 590-5.
39. Marcoff L, Thompson PD. The role of coenzyme Q10 in statin-associated myopathy: a systematic review. *J Am Coll Cardiol.* 2007; 49: 2231-7.
40. Owczarek J, Jasinska M, Orszulak-Michalak D. Drug-induced myopathies. An overview of the possible mechanisms. *Pharmacol Rep.* 2005; 57(1): 23-34.
41. Christopher-Stine L. Statin myopathy: an update. *Curr Opin Rheumatol.* 2006, 18(6): 647-53.
42. Meda C, Plank C, Mykhaylyk O, Schmidt K, Mayer B. Effects of statins on nitric oxide/cGMP signaling in human umbilical vein endothelial cells. *Pharmacol Rep.* 2010; 62(1): 100-12.
43. Lamperti C, Naini AB, Lucchini V, Prella A, Bresolin N, Moggio M, Sciacco M, Kaufmann P, DiMauro S. Muscle coenzyme Q10 level in statin-related myopathy. *Arch Neurol.* 2005; 62(11): 1709-12.
44. Caso G, Kelly P, McNurlan MA, Lawson WE. Effect of coenzyme Q10 on myopathic symptoms in patients treated with statins. *Am J Cardiol.* 2007; 99(10):1409-12.
45. Meador BM, Huey K. Statin-associated myopathy and its exacerbation with exercise. *Muscle&Nerve.* 2010; 42(4):469-79.

46. Young JM, Florkowski CM, Molyneux SL, McEwan RG, Frampton CM, George PM, Scott RS. Effect of coenzyme Q10 supplementation on simvastatin-induced myalgia. *Am J Cardiol.* 2007; 100(9):1400-3.
47. Lorkowska B, Chopicki S, Marcinkiewicz E, Gryglewski RJ. Statins rise cytoplasmic calcium level [Ca<sup>2+</sup>] in cultured endothelial cells. *Pol J Pharmacol.* 2004; 56(3): 313-8.
48. Liantonio A, Giannuzzi V, Cippone V, Camerino GM, Pierno S, Camerino DC. Fluvastatin and atorvastatin affect calcium homeostasis of rat skeletal muscle fibers in vivo and *in vitro* by impairing the sarcoplasmic reticulum/mitochondria Ca<sup>2+</sup>-release system. *J Pharmacol Exp Ther.* 2007; 321(2), 626-34.
49. Dirks AJ, Jones KM. Statin-induced apoptosis and skeletal myopathy. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2006; 291(6):C1208-C12.
50. Guijarro C, Blanco-Colio LM, Ortego M, Alonso C, Ortiz A, Plaza JJ, Diaz C, Hernandez 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; 83(5):490–500.
51. Mammen AL, Amato AA. Statin myopathy: a review of recent progress. *Curr Opin Rheumatol.* 2010; 22(6): 644-50.
52. 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; 359(8):789-99.
53. Voora D, Shah SH, Spasojevic I, Ali S, Reed CR, Salisbury BA, Ginsburg GS. The SLCO1B1\*5 genetic variant is associated with

- statin-induced side effects. *J Am Coll Cardiol.* 2009; 54(17):1609-16.
54. Mastaglia FL. Iatrogenic myopathies. *Curr Opin Neurol.* 2010; 23(5):445-9.
  55. Dawson-Hughes B. Serum 25-hydroxyvitamin D and functional outcomes in the elderly. *Am J Clin Nutr.* 2008;88:537S–540S.
  56. Lee P, Greenfield JR, Campbell LV. Vitamin D insufficiency – a novel mechanism of statin-induced myalgia? *Clin Endocrinol.* 2009; 71:154–6.
  57. Ahmed W, Khan N, Glueck CJ, Pandey S, Wang P, Goldenberg N, et al. Low serum 25(OH) vitamin D levels (<32 ng/mL) are associated with reversible myositis-myalgia in statin-treated patients. *Transl Res* 2009; 153:11–16.
  58. Gupta A, Thompson PD. The relationship of vitamin D deficiency to statin myopathy. *Atherosclerosis.* 2011 Mar;215(1):23-9.
  59. Jacobson TA. Toward “pain-free” statin prescribing: clinical algorithm for diagnosis and management of myalgia. *Mayo Clin Proc.* 2008; 83(6): 687-700.
  60. Phillips PS, Haas RH, Bannykh S, Hathaway S, Gray NL, Kimura BJ, Vladitiu GD, England JD, Scripps Mercy Clinical Research Center. Statin-associated myopathy with normal creatine kinase levels. *Ann Intern Med.* 2002; 137(7): 581-85.
  61. Draeger A, Monastyrskaya K, Mohaupt M, Hoppeler H, Savolinen H, Allemann C, Babiyshuk EB. Statin therapy induces ultrastructural damage in skeletal muscle in patients without myalgia. *J Pathol.* 2006; 210(1):94-102.

62. Dobbins RL, Malloy CR. Measuring in-vivo metabolism using nuclear magnetic resonance. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*.2003; 6(5):501-9.
63. Matson GB et al. Magnetic resonance imaging, 3<sup>rd</sup> ed. St Louis: Mosby-Year Book.1999; pp181-214.
64. Howald H, Boesh C, Kreis R, Matter S, Billeter R, Essen-Gustavsson B, Hoppeler H. Content of intramyocellular lipids derived by electron microscopy, biochemical assays, and (1)H-MR spectroscopy. *J Appl Physiol*. 2002; 92(6):2264-72.
65. Salibi N, Bromn MA. Clinical MR Spectroscopy 1998 ;Chapter 4, 62-103.
66. Torriani M, Thomas BJ, Halpern EF, Jensen ME, Rosenthal DI, Palmer WE. Intramyocellular lipid quantification: repeatability with (1)H-MR Spectroscopy. *Radiology*. 2005; 236(2):609-14.
67. Kayar SR, Hoppeler H, Howald H, Claassen H, Oberholzer F. Acute effects of endurance exercise on mitochondrial distribution and skeletal muscle morphology. *Eur. J Appl Physiol Occup Physiol*. 1986; 54(6):578-84.
68. Boesch C, Slotboom J, Hoppeler H, Kreis R. In vivo determination of intra-myocellular lipids in human muscle by means of localized (1)H-MR-spectroscopy. *Mag Reson Med*. 1997; 37(4):484-93.
69. Boesch C, Décombaz J, Slotboom J, Kreis R. Observation of intramyocellular lipids by means of 1H magnetic resonance spectroscopy. *Proc Nutr Soc*.1999;58(4):841-50
70. Hwang JH, Pan JW, Heydari S, Hetherington HP, Stein DT. Regional differences in intramyocellular lipids in humans observed

- by in vivo H-MR spectroscopic imaging. *J Appl Physiol.* 2001; 90(4):1267-74.
71. Essen B, Jansson E, Henriksson J, Taylor AW, Saltin B. Metabolic characteristics of fiber types in human skeletal muscle. *Acta Physiol Scand.* 1975; 95:153-165.
  72. Sinha R, Dufour S, Petersen KF, LeBon V, Enoksson S, Ma YZ, Savoye M, Rothman DL, Shulman GI, Caprio S. Assessment of skeletal muscle triglyceride content by (1)H nuclear magnetic resonance spectroscopy in lean and obese adolescents: relationships to insulin sensitivity, total body fat, and central adiposity. *Diabetes.* 2002; 51(4):1022-7.
  73. Kautzky-Willer A, Krssak M, Winzer C, Pacini G, Tura A, Farhan S, Wagner O, Brabant G, Horn R, Stingl H, Schneider B, Waldhausl W, Roden M. Increased intramyocellular lipid concentration identifies impaired glucose metabolism in women with previous gestacional diabetes. *Diabetes.* 2003; 52(2):244-51.
  74. Petersen KF, Befroy D, Dufour S, Dziura J, Ariyan C, Rothman DL, Di Pietro L, Cline GW, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. *Science* 2003; 300(5622):1140-2.
  75. Danial NN, Korsmeyer SJ. Cell death: critical control points. *Cell* 2004; 116(2):205-19.
  76. Schrauwen-Hinderling VB, van Loon LJ, Koopman R, Nicolay K, Saris WH, Kooi ME. Intramyocellular lipid content is increased after exercise in nonexercising human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2003; 95(6):2328-32.
  77. Dubé JJ, Amati F, Stefanovic-Racic M, Toledo FGS, Sauers SE,

- Goodpaster BH. Exercise-induced alterations in intramyocellular lipids and insulin resistance: the athlete's paradox revisited. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008; 294(5):E882-8.
78. Thamer C, Machann J, Bachmann O, Haap M, Dahl D, Wietek B, Tschritter O, Niess A, Brechtel K, Fritsche A, Claussen C, Jacob S, Schick F, Haring KU, Stumvoll M. Intramyocellular Lipids: Anthropometric Determinants and relationship with maximal aerobic capacity and insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88(4):1785-91.
79. Goodpaster BH, Theriault R, Watkins SC, Kelley DE. Intramuscular lipid content is increased in obesity and decreased by weight loss. *Metabolism.* 2000; 49(4):467-72.
80. Wu JS, Buettner C, Smithline H, Ngo LH, Greenman RL. Evaluation of skeletal muscle during calf exercise by 31-phosphorus magnetic resonance spectroscopy in patients on statin medications. *Muscle & Nerve* 2011; 43(1):76-81.
81. Moreira EO, Santos RD, Martinez L, Saldanha FC, Pimenta JLAC, Feijoo J, Jahnke N, Magile OC, Kupfer R. Perfil lipídico de pacientes com alto risco para eventos cardiovasculares. *Arq. Bras Endocrinol Metab* 2006;50/3:481-489.
82. Frahm J, Michaelis T, Merboldt KD, Bruhn H, Gyngell ML, Hanicke W. Improvements in localized proton NMR spectroscopy using stimulated echoes: initial applications to human brain in vivo. *Magn Reson Med.* 1989; 9:79-93.
83. Provencher SW. Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn Reson Med.*1993; 30(6):672-9.

84. Rico-Sanz J, Thomas EL, Jenkinson G, Mierisova S, Iles R, Bell JD. Diversity in levels of intracellular total creatine and triglycerides in human skeletal muscles observed by (1)H-MRS. *J Appl Physiol.* 1999;87:2068-72.
85. Neter J, Kutner MH, Nachtsheim CJ and Wasserman W (1996). *Applied Linear Statistical Models.* 4. ed. Illinois: Richard D. Irwing. 1408p.
86. Rosner B. *Fundamentals of Biostatistics* - Boston, PWS Publishers, Second edition, 1986, 584p.
87. Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C, Kirby A, Sourjina T, Peto R, Collins R, Simes R. Cholesterol Treatment Trialists (CTT) Collaborators. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomized trials of statins. *Lancet.* 2005;366(9493):1267-78.
88. Lane R, Phillips M. Rhabdomyolysis. *BMJ.* 2003; 327(7413):500.
89. Gibson DM, Bron NJ, Richens A, Hounslow NJ, Sedman AJ, Whitfield LR. Effect of age and gender on pharmacokinetics of atorvastatin in humans. *J Clin Pharmacol.* 1996; 36(3):242-6.
90. Bhuiyan J, Secombe DW. The effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibition on tissue levels of carnitine and carnitine acyltransferase activity in the rabbit. *Lipids.* 1996; 31(8):867-70.
91. 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; 97(8A):89C-94C.

92. McClure DL, Valuck RJ, Glanz M, Murphy JR, Hokanson JE. Statin and statin-fibrate use was significantly associated with increased myositis risk in a managed care population. *J Clin Epidemiol.* 2007; 60(8):812–8.
93. Thompson PD, Clarkson PM, Rosenson RS. An assessment of statin safety by muscle experts. *Am J Cardiol.* 2006; 97(8A):69C–76C.
94. Chan J, Hui RL, Levin E. Differential association between statin exposure and elevated levels of creatine kinase. *Ann Pharmacother.* 2005; 39:1611–6.