

## Efeito Endotelial da Terapia com Estatina em Alta Dose versus Baixa Dose Associada à Ezetimiba

*Endothelial Effect of Statin Therapy at a High Dose Versus Low Dose Associated with Ezetimibe*

Maristela Magnavita Oliveira Garcia, Carolina Garcez Varela, Patricia Fontes Silva, Paulo Roberto Passos Lima, Paulo Meira Góes, Marília Galeffi Rodrigues, Maria de Lourdes Lima Souza e Silva, Ana Marice Teixeira Ladeia, Armênio Costa Guimarães, Luis Claudio Lemos Correia

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP)- FBDC, Salvador, BA – Brasil

### Resumo

**Fundamento:** O efeito das estatinas na função endotelial em seres humanos permanece em discussão. Particularmente, ainda carece resposta se a melhora na função endotelial deve-se à redução do LDL-colesterol ou a um efeito pleiotrópico arterial.

**Objetivo:** Testar a hipótese de que a modulação da função endotelial promovida por estatinas é prioritariamente mediada pelo grau de redução do LDL-colesterol, independente da dose de estatina utilizada.

**Métodos:** Ensaio clínico randomizado com dois grupos de tratamento hipolipemiante (16 pacientes/cada) e um grupo placebo (14 pacientes). Os dois grupos ativos foram desenhados para promover graus semelhantes de redução de LDL-colesterol: o primeiro utilizou estatina em alta dose (80 mg, grupo simvastatina 80) e o segundo em baixa dose (10 mg) associada a ezetimiba (10 mg, grupo simvastatina 10/ezetimiba) para otimizar o efeito hipolipemiante. A função endotelial foi analisada pela vasodilatação mediada por fluxo (VMF) antes e após 8 semanas de tratamento.

**Resultados:** A redução no LDL-colesterol foi semelhante entre os grupos simvastatina 80 e simvastatina 10/ezetimiba ( $27\% \pm 31\%$  e  $30\% \pm 29\%$ , respectivamente,  $p = 0,75$ ). O grupo simvastatina 80 apresentou incremento da VMF de  $8,4\% \pm 4,3\%$  no basal para  $11\% \pm 4,2\%$  após 8 semanas ( $p = 0,02$ ). Da mesma forma, o grupo simvastatina 10/ezetimiba apresentou melhora da VMF de  $7,3\% \pm 3,9\%$  para  $12\% \pm 4,4\%$  ( $p = 0,001$ ). O grupo placebo não apresentou variação no nível de LDL-colesterol ou da função endotelial.

**Conclusão:** A melhora da função endotelial com uso de estatina parece depender mais da redução do LDL-colesterol, independente da dose de estatina utilizada, do que de mecanismos pleiotrópicos. (Arq Bras Cardiol. 2016; 106(4):279-288)

**Palavras-chave:** Endotélio / fisiologia; Colesterol; Inibidores de Hidroximetil glutaril-CoA Redutases / uso terapêutico; Ezetimiba; Anticolesterolemiantes.

### Abstract

**Background:** The effect of statins on the endothelial function in humans remains under discussion. Particularly, it is still unclear if the improvement in endothelial function is due to a reduction in LDL-cholesterol or to an arterial pleiotropic effect.

**Objective:** To test the hypothesis that modulation of the endothelial function promoted by statins is primarily mediated by the degree of reduction in LDL-cholesterol, independent of the dose of statin administered.

**Methods:** Randomized clinical trial with two groups of lipid-lowering treatment (16 patients/each) and one placebo group (14 patients). The two active groups were designed to promote a similar degree of reduction in LDL-cholesterol: the first used statin at a high dose (80 mg, simvastatin 80 group) and the second used statin at a low dose (10 mg) associated with ezetimibe (10 mg, simvastatin 10/ezetimibe group) to optimize the hypolipidemic effect. The endothelial function was assessed by flow-mediated vasodilation (FMV) before and 8 weeks after treatment.

**Results:** The decrease in LDL-cholesterol was similar between the groups simvastatin 80 and simvastatin 10/ezetimibe ( $27\% \pm 31\%$  and  $30\% \pm 29\%$ , respectively,  $p = 0.75$ ). The simvastatin 80 group presented an increase in FMV from  $8.4\% \pm 4.3\%$  at baseline to  $11\% \pm 4.2\%$  after 8 weeks ( $p = 0.02$ ). Similarly, the group simvastatin 10/ezetimibe showed improvement in FMV from  $7.3\% \pm 3.9\%$  to  $12\% \pm 4.4\%$  ( $p = 0.001$ ). The placebo group showed no variation in LDL-cholesterol level or endothelial function.

**Conclusion:** The improvement in endothelial function with statin seems to depend more on a reduction in LDL-cholesterol levels, independent of the dose of statin administered, than on pleiotropic mechanisms. (Arq Bras Cardiol. 2016; 106(4):279-288)

**Keywords:** Endothelium / physiology; Cholesterol; Hydroxymethylglutaryl-CoA Reductase Inhibitors / therapeutic use; Ezetimibe; Anticholesterolemic Agents.

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

Correspondência: Luis C. L. Correia •

Av. Princesa Leopoldina, 19/402. CEP 40.150-080, Salvador – BA – Brasil

E-mail: lccorreia@cardiol.br

Artigo recebido em 31/12/14; revisado em 10/11/15; aceito em 24/11/15.

DOI: 10.5935/abc.20160048

## Introdução

Os benefícios cardiovasculares da terapia redutora de colesterol com estatinas estão demonstrados nos cenários de prevenção primária<sup>1</sup> e secundária,<sup>2</sup> sendo a melhora da função endotelial um dos mecanismos envolvidos. Este mecanismo é creditado ao efeito hipolipemiante das estatinas, amparado na associação entre a magnitude da redução do colesterol e redução do risco cardiovascular.<sup>3</sup> Por outro lado, alguns autores sugerem que a melhora da função endotelial também é mediada por ação pleiotrópica<sup>4,5</sup> independente do colesterol: efeitos anti-inflamatório, antioxidante e antitrombótico.<sup>6-8</sup>

Estas observações são baseadas em estudos *in vitro*, porém a confirmação clínica é limitada pela dificuldade em isolar o teórico efeito pleiotrópico do efeito hipolipemiante das estatinas. O advento da ezetimiba como droga para tratamento da hipercolesterolemia viabilizou um modelo científico adequado para testar a hipótese pleiotrópica por permitir a obtenção do mesmo grau de redução do LDL-colesterol com dose menor de estatina.<sup>9</sup> Para uma mesma redução de colesterol, doses maiores de estatina promovendo maior benefício endotelial do que doses menores representariam evidência clínica a favor da ação pleiotrópica. Este modelo se pauta no fato de que a ezetimiba não interfere na via do mevalonato, sendo seu efeito mediado apenas pela absorção intestinal do colesterol.<sup>10</sup>

Nós realizamos este ensaio clínico randomizado com o intuito de testar a hipótese de que o fator que influencia a função endotelial é a redução do LDL-colesterol, independente da dose de estatina utilizada. Neste estudo, o desfecho do efeito da estatina na função endotelial foi avaliado pela comparação do grau de vasodilatação arterial mediada por fluxo entre indivíduos randomizados para alta dose de sinvastatina *versus* baixa dose de estatina associada à ezetimiba.

## Métodos

### Desenho do estudo

Ensaio clínico randomizado, duplo-cego e placebo-controlado, sob registro identificador NCT01241097 no *ClinicalTrials.gov*, realizado no Ambulatório de Obesidade da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, em Salvador, Bahia, Brasil. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética da instituição sob protocolo de número 157/2009 e todas as participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

### Seleção da Amostra

Mulheres matriculadas no ambulatório foram selecionadas consecutivamente de acordo com os seguintes critérios de inclusão: idade superior a 18 anos, índice de massa corpórea (IMC) > 25 kg/m<sup>2</sup> e LDL-colesterol > 100 mg/dL. Como critérios de exclusão, foram definidas as seguintes características: uso de estatina, ezetimiba, fibrato ou terapia de reposição hormonal nos últimos três meses; nível de triglicérides > 400 mg/dL; nível de creatinina sérica superior

a 2,0 mg/dL; nível de enzimas hepáticas pelo menos 1,5 vezes acima do limite de referência da normalidade; nível sérico de creatina fosfoquinase (CPK) superior a três vezes o limite da normalidade; gravidez ou amamentação; ocorrência de insuficiência cardíaca, colagenoses, processo inflamatório agudo ou doença psiquiátrica. Também foram excluídas pacientes que haviam iniciado uso nas últimas 4 semanas de betabloqueador, inibidor de enzima de conversão, ou bloqueador de canais de cálcio e aquelas com artérias braquiais com diâmetros inferiores a 2,5 mm, já que a medida do grau de dilatação está comprometida nesta circunstância.

### Protocolo do Estudo

Após seleção, as mulheres foram randomizadas em blocos de três para as seguintes modalidades de tratamento: 1) sinvastatina 80 mg, 2) sinvastatina 10 mg e ezetimiba 10 mg e 3) placebo (Figura 1). Os seguintes critérios de interrupção precoce da terapia foram utilizados: intolerância ao uso das medicações, aumento das enzimas hepáticas três vezes acima do limite superior da normalidade, ou medida isolada de CPK 10 vezes acima do limite superior da normalidade.

Foram realizadas três avaliações sequenciais para análise da função endotelial e coleta de dados laboratoriais: a primeira antes do início do tratamento, a segunda após 4 semanas de tratamento e a terceira, que representou a avaliação final, após 8 semanas de tratamento. Nestas avaliações foram registrados possíveis eventos adversos maiores (rabdomiólise, insuficiência hepática, insuficiência renal, pancreatite, icterícia obstrutiva, morte), intermediários (mialgia, diarreia e vômitos, entre outros) e menores (constipação, náusea e flatulência, entre outros).

### Análise Bioquímica

As coletas de sangue foram realizadas após 12 horas de jejum seguindo as técnicas e métodos padronizados pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica. A dosagem de proteína C reativa foi realizada pelo método nefelométrico de alta sensibilidade,<sup>11</sup> disponível comercialmente (Dade Behring Inc., Newark, DE, EUA). As concentrações plasmáticas de colesterol total, HDL-colesterol e triglicérides foram obtidas por meio de método bioquímico enzimático (Dade Behring Inc., Newark, DE, EUA).

### Vasodilatação Mediada por Fluxo da Artéria Braquial

Todas as participantes foram previamente orientadas quanto à necessidade de, no dia do exame, estarem em jejum, não terem realizado atividade física, ou feito uso de medicações, café, ou cigarro. A aderência a estas orientações foi checada antes do procedimento.

Foi utilizado aparelho de ultrassonografia com Doppler colorido de alta resolução da marca GE, modelo Vivid 3. O exame foi realizado segundo diretriz previamente publicada,<sup>12</sup> sendo as voluntárias estudadas após jejum de 4 horas e repouso de 10 minutos na posição deitada, com temperatura ambiente controlada (22° a 24° C). Os exames foram realizados por um único examinador, que estava cego para os dados das participantes. Uma monitorização eletrocardiográfica simultânea, acoplada ao sistema de

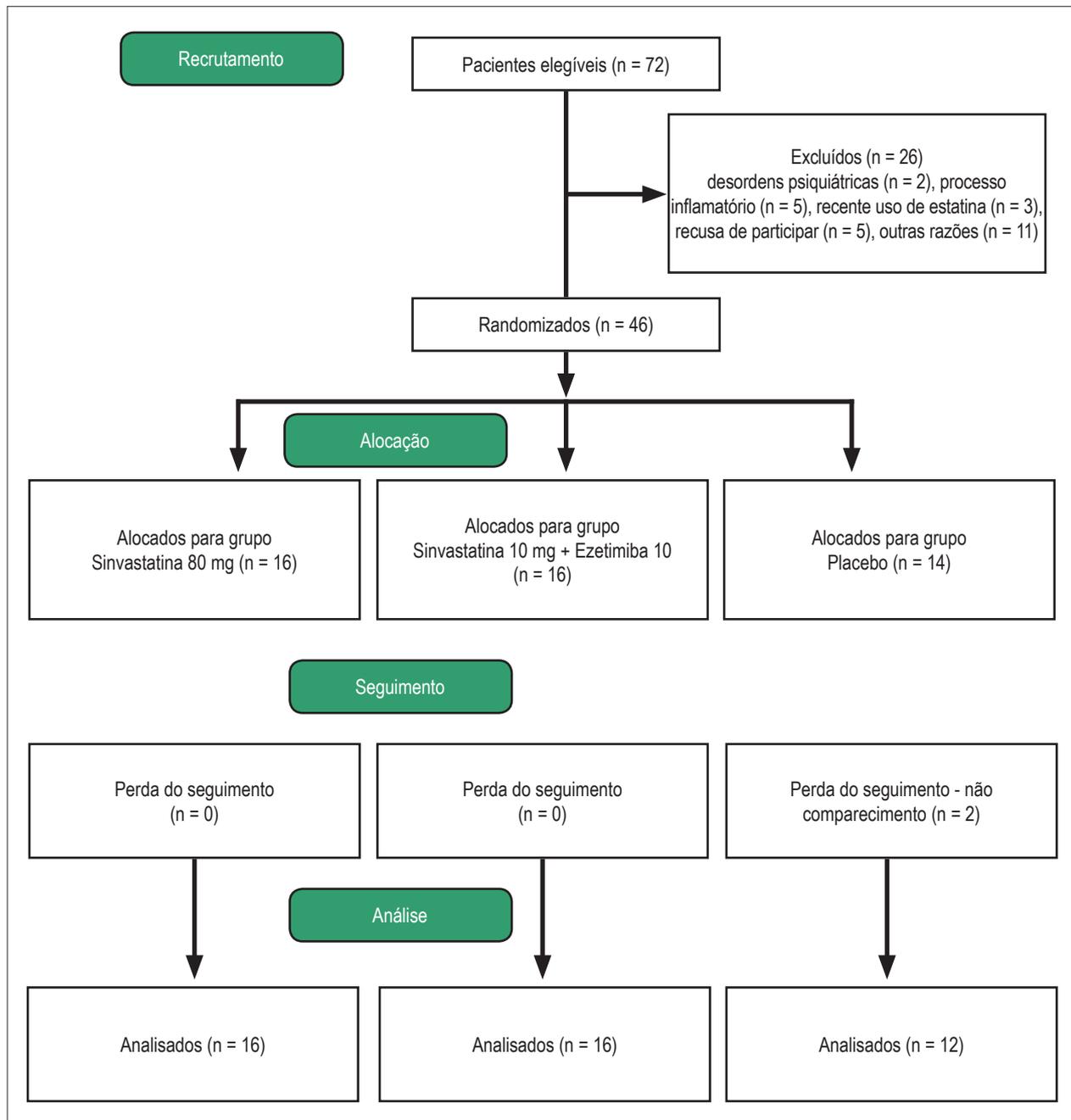


Figura 1 – Fluxograma do protocolo do estudo.

ultrassonografia, permitiu a sincronização das imagens com o ciclo cardíaco. A artéria braquial foi identificada no eixo longitudinal, 3 centímetros acima da fossa antecubital e demarcada na pele com pincel para evitar mudanças na sua posição ou inclinação. Uma imagem longitudinal de 6 a 8 centímetros foi adquirida como referência basal. Posteriormente, foi obtido o fluxo e estimada a velocidade média de uma amostra-volume no centro da artéria, com 60° de angulação do vaso. Em seguida, o manguito de um esfigmomanômetro foi posicionado no antebraço e inflado

até pelo menos 50 mmHg acima da pressão sistólica basal durante 5 minutos para ocluir a artéria. Subsequentemente, o manguito foi desinflado, induzindo breve estado de alto fluxo, ou hiperemia reativa, e após 1 minuto, obtida a imagem da VMF, representante da dilatação dependente do endotélio devida à produção do óxido nítrico causada por *shear stress*. Foram digitalizadas imagens em movimento, com início 30 segundos antes da desinflação do manguito até 2 minutos depois. Uma imagem correspondente à segunda fase de repouso foi adquirida após 15 minutos. Novamente,

adquiria-se o Doppler do fluxo da artéria braquial após a liberação do manguito e 15 segundos antes da desinflação do manguito, registrava-se a velocidade do fluxo durante a hiperemia. Por último, a vasodilatação independente do endotélio foi medida pelo cálculo da resposta vasodilatadora 4 minutos após a administração sublingual de 5 mg de dinitrato de isossorbida.

As etapas dos exames de VMF foram digitalizadas, o que permitiu posterior análise das correlações entre as medidas dos diâmetros arteriais basais, diâmetros arteriais máximos após dilatação e dos percentuais de VMF. Essa análise foi feita com 22% da amostra e as correlações intraobservador para as referidas medidas foram de 0,99, 0,98 e 0,88, respectivamente, enquanto as correlações interobservadores foram de 0,98, 0,91 e 0,82, respectivamente. Contudo, não foram feitas avaliações em momentos diferentes, ou seja, novas aquisições de VMF especificamente para esse tipo de análise.

### Análise dos Dados

O tamanho amostral foi estimado *a priori* no intuito de promover poder estatístico de 90% ( $\alpha = 5\%$ ) para detectar diferença absoluta de 20% entre os grupos (sinvastatina 80 e sinvastatina 10/ezetimiba) na variação da VMF obtida com o tratamento (comparação intergrupo). Utilizamos a premissa pessimista de que o desvio-padrão do delta em cada grupo seria em torno de 15%, resultando na necessidade de 13 pacientes em cada grupo.

A VMF foi calculada como a variação percentual no diâmetro da artéria após a hiperemia. O efeito do tratamento na função endotelial foi medido primariamente pela variação percentual da VMF entre o momento basal e após 8 semanas de tratamento. Esta variável foi comparada entre os dois grupos de tratamento pelo teste de Mann-Whitney. Na análise intragrupo, a medida da VMF foi comparada separadamente em cada grupo antes e depois do tratamento pelo teste de Wilcoxon *signed rank*. Para comparação pareada da VMF entre os três momentos (basal, 4 semanas e 8 semanas) foi utilizada análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas. Esta análise também foi utilizada para comparar os efeitos dos tratamentos considerando os três momentos, através da interação entre grupo e momento. Além disto, visando avaliar a ocorrência durante o seguimento de eventuais diferenças clínicas entre os grupos que pudessem constituir vieses de confusão, a ANOVA foi realizada para comparação das características clínicas entre os três grupos.

Secundariamente, a variação percentual da VMF entre o basal e a oitava semana nos grupos de tratamento ativo foram comparadas com a do grupo placebo pelo teste de Mann-Whitney. Neste caso, optamos por não comparar simultaneamente os três grupos (ANOVA), pois esta análise foi considerada complementar e não relacionada ao teste da hipótese principal do trabalho. Na comparação entre os grupos considerando a análise intermediária (quarta semana), o tratamento foi realizado da mesma forma, por também ser análise complementar.

A associação linear entre as variações de LDL-colesterol e a VMF foi testada pelo coeficiente de correlação de Spearman.

A análise de covariância (ANCOVA) foi utilizada para ajustar o efeito dos tratamentos para a idade. Valores de probabilidade bicaudais  $< 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão para as variáveis contínuas e porcentagem para as variáveis categóricas. Variáveis que fugiram da normalidade na distribuição foram expressas por mediana e intervalo interquartil (IIQ). Foi utilizado para a análise estatística o programa *Statistical Package for Social Sciences*, versão 20 para Windows (SPSS Inc, Chicago, IL, EUA).

## Resultados

### Características Da Amostra

A amostra caracterizou-se por mulheres adultas jovens ( $43 \pm 10$  anos) e com excesso de peso, evidenciado por IMC de  $35 \pm 5,8$  kg/m<sup>2</sup>. A média dos valores plasmáticos de LDL-colesterol encontrava-se discretamente elevada ( $137 \pm 31$  mg/dL), enquanto a mediana dos níveis de proteína C reativa ( $3,6$  mg/L, IIQ =  $1,7 - 6,7$  mg/L) indicava um status inflamatório exacerbado. Quanto à função endotelial, a média da VMF foi  $8,5\% \pm 4,3\%$ , abrangendo medidas reduzidas e valores normais de VMF (considera-se que pacientes saudáveis tenham VMF acima de 7%).<sup>13</sup> O diagnóstico de diabetes estava presente em 8,7% das participantes, todas em uso de metformina, enquanto 41% eram hipertensas em uso de anti-hipertensivos. Nenhuma participante apresentava comprometimento hepático ou renal.

Seguindo a randomização, 16 mulheres foram alocadas para o grupo sinvastatina 80, 16 para o grupo sinvastatina 10/ezetimiba e 14 para o grupo placebo. Não houve diferenças significativas entre os grupos de tratamento quanto às características clínicas, laboratoriais e classes de drogas anti-hipertensivas (Tabela 1). Ao longo do seguimento, as características clínicas mantiveram-se semelhantes entre os grupos (Tabela 2). A média dos valores de VMF foram semelhantes entre os grupos sinvastatina 80 ( $8,4\% \pm 4,3\%$ ), sinvastatina 10/ezetimiba ( $7,6\% \pm 3,9\%$ ) e placebo ( $9,8\% \pm 4,5\%$ ;  $p = 0,31$ ).

### Efeito Antilipêmico dos Tratamentos

Durante as 8 semanas do estudo, não ocorreram interrupções nos tratamentos, tendo sido plena e idêntica a aderência nos três grupos. Nenhum efeito colateral que necessitasse a suspensão do tratamento foi registrado. Sintomas menores foram referidos, sendo cefaleia o mais frequente (um caso no grupo sinvastatina 80, um caso no grupo sinvastatina 10/ezetimiba e três casos no grupo placebo), seguido de dores nas pernas (um caso no grupo sinvastatina 80 e um caso no grupo sinvastatina 10/ezetimiba) e vômitos (um caso no grupo sinvastatina 10/ezetimiba).

Após 8 semanas de tratamento ativo, foi observada uma significativa redução do LDL-colesterol de forma semelhante entre os grupos sinvastatina 80 ( $27\% \pm 31\%$ ) e sinvastatina 10/ezetimiba ( $30\% \pm 29\%$ ,  $p = 0,75$ ). A redução absoluta foi de  $36 \pm 45$  mg/dL no grupo sinvastatina 80 e  $45 \pm 36$  mg/dL no grupo sinvastatina 10/ezetimiba ( $p = 0,57$ ). O grupo placebo não apresentou redução do LDL-colesterol (Tabela 3 e Figura 2).

Tabela 1 – Comparação das características clínicas e laboratoriais entre os grupos de tratamento

	Sinvastatina 80	Sinvastatina 10/Ezetimiba	Placebo	p
Amostra	16	16	14	
Idade (anos)	41 ± 8,6	48 ± 8,1	40 ± 12	0,05
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	35 ± 4,3	36 ± 4,4	36 ± 8,6	0,90
Cintura (cm)	107 ± 7,6	108 ± 9,9	107 ± 17	0,94
Cintura/quadril	0,92 ± 0,71	0,92 ± 0,67	0,91 ± 0,56	0,84
PAS (mmHg)	133 ± 15	132 ± 18	130 ± 18	0,86
PAD (mmHg)	85 ± 9	86 ± 13	81 ± 14	0,52
Colesterol total (mg/dL)	205 ± 29	225 ± 47	206 ± 33	0,26
HDL-colesterol (mg/dL)	49 ± 11	52 ± 12	49 ± 11	0,75
LDL-colesterol (mg/dL)	133 ± 26	149 ± 43	136 ± 27	0,50
Triglicérides (mg/dL)	125 ± 51	121 ± 67	115 ± 41	0,46
PCR (mg/dL)	3,9 (2,1 – 8,1)	3,0 (1,8 – 5,1)	3,3 (1,2 – 7,2)	0,70
Glicemia (mg/dL)	96 ± 12	103 ± 24	94 ± 19	0,39
Ureia (mg/dL)	29 ± 7,3	29 ± 8,3	26 ± 6	0,42
Creatinina (mg/dL)	0,83 ± 0,11	0,79 ± 0,12	0,85 ± 0,18	0,55
AST (U/L)	18 ± 5,1	20 ± 4,6	20 ± 11	0,71
ALT (U/L)	18 ± 5,1	20 ± 4,6	20 ± 11	0,71
GGT (U/L)	32 ± 11,74	42 ± 22,99	42 ± 23,70	0,27
CPK (mg/dL)	123 ± 60	168 ± 88	109 ± 62	0,07
Hipertensão	5 (31%)	6 (38%)	8 (57%)	0,33
IECA	2 (13%)	0 (0%)	4 (29%)	0,07
BRA	1 (6,3%)	2 (13%)	2 (14%)	0,75
Menopausa	1 (6,3%)	4 (25%)	2 (14%)	0,33
Tabagismo	0 (6,3%)	1 (6,3%)	0 (0%)	0,38
Sedentarismo	11 (69%)	8 (50%)	8 (57%)	0,55
Dieta hipocalórica	6 (38%)	7 (44%)	6 (43%)	0,93
Diabetes	0 (0%)	1 (6,3%)	3 (21%)	0,10
Consumo de café	14 (88%)	14 (88%)	12 (86%)	0,99
VMF	8,4% ± 4,3%	7,6% ± 3,9%	9,8% ± 4,5%	0,31

IMC: índice de massa corpórea; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; PCR: proteína C reativa; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; GGT: gama-glutamilttransferase; CPK: creatina fosfoquinase; IECA: inibidor da enzima conversora da angiotensina; BRA: bloqueador do receptor da angiotensina; VMF: vasodilatação mediada por fluxo.

A redução no nível do LDL-colesterol esteve já presente na medida realizada nas 4 semanas de tratamento, a qual não diferiu da medida na oitava semana no grupo sinvastatina 80 ( $p = 0,15$ ) ou no grupo sinvastatina 10/ezetimiba ( $p = 0,90$ ).

Não houve variação significativa nos níveis plasmáticos de HDL-colesterol ou triglicérides em nenhum dos três grupos de tratamento, exceto por redução dos triglicérides limitada ao grupo sinvastatina 80. Da mesma forma, a glicemia permaneceu constante. As enzimas hepáticas, proteína C reativa, CPK e o peso não sofreram mudanças significativas ao longo dos tratamentos instituídos. As únicas exceções a isto foram um aumento no nível da CPK no grupo sinvastatina 80,

que ocorreu sem queixas clínicas ou valores considerados de risco, e ALT no grupo sinvastatina 10/ezetimiba (Tabela 4).

#### Efeito dos Tratamentos na Vasodilatação Arterial Mediada por Fluxo

O grupo sinvastatina 80 apresentou incremento da VMF de  $8,4\% \pm 4,3\%$  para  $11\% \pm 4,2\%$  após 8 semanas de tratamento ( $p = 0,02$ ). De forma semelhante, o grupo sinvastatina 10/ezetimiba apresentou melhora da vasodilatação, de  $7,3\% \pm 3,9\%$  para  $12\% \pm 4,4\%$  ( $p = 0,001$ ). Em termos relativos, a variação da vasodilatação arterial apresentou mediana de +39% (IIQ = 2,2% a 105%) no grupo sinvastatina

Tabela 2 – Comparação das características clínicas entre os três grupos durante o seguimento

Características	Seguimento (semanas)	Grupos de tratamento			P
		Sinvastatina 80	Sinvastatina 10/ Ezetimiba	Placebo	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	4	35 ± 4,3	35 ± 4,4	35 ± 6,6	0,87
	8	34 ± 4,4	35 ± 4,3	36 ± 9,3	0,77
PAS (mmHg)	4	133 ± 13,5	132 ± 15,3	130 ± 15,7	0,84
	8	133 ± 14,5	133 ± 15,5	132 ± 15,1	0,82
PAD (mmHg)	4	86 ± 7,3	83 ± 9,3	81 ± 12	0,39
	8	84 ± 9,4	84 ± 9,4	81 ± 12	0,49
HDL-colesterol (mg/dL)	4	49 ± 9,8	53 ± 14	52 ± 14	0,76
	8	51 ± 12	52 ± 13	50 ± 8	0,89
Triglicérides (mg/dL)	4	91 ± 29	124 ± 60	132 ± 38	0,30
	8	99 ± 39	122 ± 73	127 ± 52	0,34
Glicemia (mg/dL)	4	93 ± 11	102 ± 22	111 ± 54	0,28
	8	95 ± 10	102 ± 18	103 ± 32	0,32
Ureia (mg/dL)	4	31 ± 5,0	28 ± 4,7	28 ± 4,7	0,30
	8	29 ± 6,3	28 ± 6,4	27 ± 5,3	0,43
Creatinina (mg/dL)	4	0,84 ± 0,14	0,85 ± 0,15	0,78 ± 0,12	0,42
	8	0,82 ± 0,12	0,80 ± 0,12	0,87 ± 0,19	0,37
AST (U/L)	4	17 ± 4	22 ± 9	17 ± 7	0,17
	8	19 ± 5	23 ± 10	18 ± 5	0,17
ALT (U/L)	4	17 ± 6	26 ± 15	17 ± 10	0,12
	8	21 ± 8	25 ± 12	18 ± 10	0,17
GGT (U/L)	4	31 ± 9,3	41 ± 18,8	44 ± 30,8	0,32
	8	32 ± 11,1	38 ± 15,3	42 ± 33,1	0,53
CPK (mg/dL)	4	136 ± 64	185 ± 127	103 ± 60	0,12
	8	155 ± 84	195 ± 118	120 ± 67	0,10
PCR (mg/dL)	4	3,3 (2,1 – 6,4)	2,0 (1,7 – 4,2)	4,0 (2,4 – 8,2)	0,19
	8	2,9 (1,9 – 8,3)	2,0 (1,6 – 4,2)	4,4 (2,7 – 8,3)	0,43

IMC: índice de massa corpórea; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; HDL: lipoproteína de alta densidade; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; GGT: gama-glutamyltransferase; CPK: creatina fosfoquinase; PCR: proteína C reativa.

80, que foi semelhante ao grupo sinvastatina 10/ezetimiba (+41%, IIQ = 13% a 227%,  $p = 0,36$ ). Esta comparação permaneceu não significativa após ajuste para a diferença de idade entre estes dois grupos (ANCOVA,  $p = 0,30$ ). O grupo placebo apresentou mínima variação da vasodilatação arterial, apresentando mediana de +6,2% (IIQ = -6,6% a 56%), sem significância estatística na comparação entre a medida basal e a da oitava semana ( $p = 0,28$ ; Figura 3 e Tabela 5). Ao se comparar de forma pareada os três momentos de avaliação (basal, 4 semanas e 8 semanas) por ANOVA de medidas repetidas, os grupos sinvastatina 80 ( $p = 0,045$ ) e sinvastatina 10/ezetimiba ( $p = 0,001$ ) apresentaram variação significativa, diferente do grupo placebo ( $p = 0,25$ ). Nesta análise, não houve interação entre grupo e momento quando apenas os tratamentos ativos foram considerados ( $p = 0,30$ ), indicando semelhança na variação entre estes dois grupos.

Não houve diferenças entre os grupos ativos na variação da vasodilatação independente do endotélio mediada por nitrato.

Ao contrário do efeito no LDL-colesterol, 4 semanas de tratamento não foram suficientes para impacto na VMF arterial comparável ao obtido ao final da oitava semana,

embora uma tendência na melhora da vasodilatação já tivesse sido observada nesta medida interina. Esta melhora foi representada por uma mediana de +27% (IIQ = -13% a 63%,  $p = 0,09$ ) no grupo sinvastatina 80 e +25% (IIQ = -4% a 92%,  $p = 0,03$ ) no grupo sinvastatina 10/ezetimiba.

Houve correlação ( $r = -0,33$ ,  $p = 0,03$ ) entre as variações de LDL-colesterol e da VMF na análise conjunta da população estudada.

## Discussão

O presente estudo sugere que a melhora da função endotelial promovida pela terapia com estatina depende basicamente do efeito hipolipemiante deste medicamento, sem evidência de ação pleiotrópica. A hipótese pleiotrópica foi testada pela utilização de doses diferentes de sinvastatina (80 mg versus 10 mg), sob a premissa de que haveria um gradiente dose-resposta caso este mecanismo estivesse presente. No intuito de evitar que o grau de redução do LDL-colesterol fosse um fator confundidor, a ezetimiba foi associada ao grupo de menor dose de sinvastatina, proporcionando o mesmo efeito hipolipemiante do grupo

Tabela 3 – Efeito dos tratamentos nos perfis lipídico e metabólico nos três grupos após 4 e 8 semanas

	Basal	8 Semanas	p	4 Semanas	p (4 versus 8 semanas)
<b>Sinvastatina 80</b>					
LDL-colesterol (mg/dL)	133 ± 26	95 ± 44	0,006	72 ± 23	0,15
Colesterol total (mg/dL)	205 ± 29	166 ± 48	0,007	141 ± 26	0,12
HDL-colesterol (mg/dL)	49 ± 11	51 ± 12	0,48	49 ± 9,8	0,97
Triglicérides (mg/dL)	125 ± 51	99 ± 39	0,01	91 ± 29	0,26
Glicemia (mg/dL)	96 ± 12	95 ± 10	0,88	93 ± 11	0,28
<b>Sinvastatina 10/Ezetimiba</b>					
LDL-colesterol (mg/dL)	149 ± 43	100 ± 45	< 0,001	97 ± 49	0,90
Colesterol total (mg/dL)	226 ± 51	176 ± 54	< 0,001	169 ± 52	0,83
HDL-colesterol (mg/dL)	54 ± 12	52 ± 13	0,98	53 ± 14	0,39
Triglicérides (mg/dL)	121 ± 67	122 ± 73	0,08	124 ± 60	0,52
Glicemia (mg/dL)	103 ± 24	102 ± 18	0,28	102 ± 22	0,65
<b>Placebo</b>					
LDL-colesterol (mg/dL)	136 ± 27	137 ± 29	0,80	123 ± 30	0,21
Colesterol total (mg/dL)	206 ± 33	212 ± 31	0,79	201 ± 35	0,32
HDL-colesterol (mg/dL)	49 ± 11	50 ± 8	0,39	52 ± 14	0,50
Triglicérides (mg/dL)	115 ± 41	127 ± 52	0,27	132 ± 38	0,48
Glicemia (mg/dL)	94 ± 19	103 ± 32	0,06	111 ± 54	0,40

LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade.

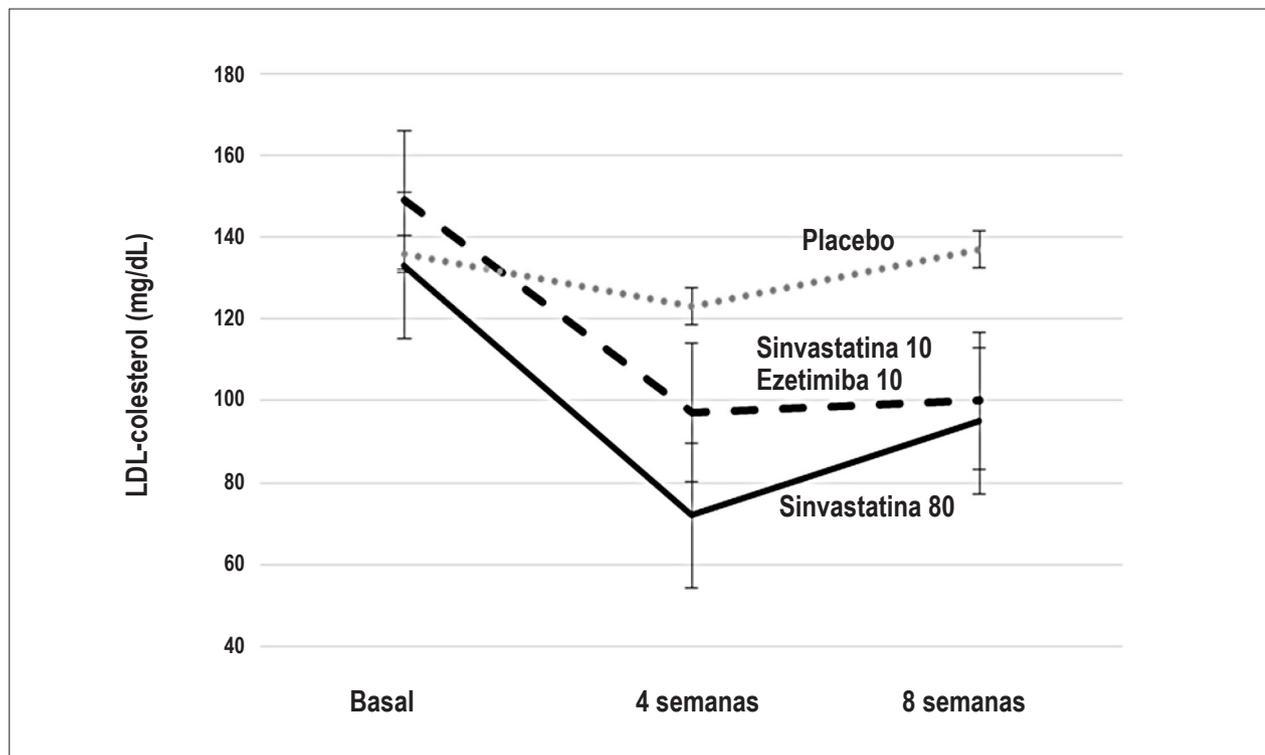


Figura 2 – Efeito dos tratamentos no LDL-colesterol, mostrando significativa redução da lipoproteína nos grupos ativos.

Tabela 4 – Efeito dos tratamentos no peso e características bioquímicas

	Basal	4 Semanas	p	8 Semanas	p
<b>Sinvastatina</b>					
Índice de massa corpórea (kg/m <sup>2</sup> )	35 ± 4,3	35 ± 4,3	0,51	34 ± 4,4	0,19
Aspartato transaminase (U/L)	18 ± 5,1	17 ± 4	0,73	19 ± 5	0,50
Alanina transaminase (U/L)	18 ± 5,1	17 ± 6	0,90	21 ± 8	0,05
Creatinofosfoquinase (mg/dL)	123 ± 60	136 ± 64	0,04	155 ± 84	0,03
PCR (mg/L)	3,9 (2,1 – 8,1)	3,3 (2,1 – 6,4)	0,14	2,9 (1,9 – 8,3)	0,65
<b>Sinvastatina/Ezetimibe</b>					
Índice de massa corpórea (kg/m <sup>2</sup> )	36 ± 4,4	35 ± 4,4	0,63	35 ± 4,3	0,27
Aspartato transaminase (U/L)	20 ± 4,6	22 ± 9	0,42	23 ± 10	0,22
Alanina transaminase (U/L)	20 ± 4,6	26 ± 15	0,21	25 ± 12	0,03
Creatinofosfoquinase (mg/dL)	168 ± 88	185 ± 127	0,30	195 ± 118	0,11
PCR (mg/L)	3,0 (1,8 – 5,1)	2,0 (1,7 – 4,2)	0,55	2,0 (1,6 – 4,2)	0,66
<b>Placebo</b>					
Índice de massa corpórea (kg/m <sup>2</sup> )	36 ± 8,6	35 ± 6,6	0,23	36 ± 9,4	0,81
Aspartato transaminase (U/L)	20 ± 11	17 ± 7	0,59	18 ± 5	0,24
Alanina transaminase (U/L)	20 ± 11	17 ± 10	0,20	18 ± 10	0,12
Creatinofosfoquinase (mg/dL)	109 ± 62	103 ± 60	0,17	120 ± 67	0,25
PCR (mg/L)	3,3 (1,2 – 7,2)	4,0 (2,4 – 8,2)	0,43	4,4 (2,7 – 8,3)	0,11

PCR: Proteína C reativa (mediana e intervalo interquartil).

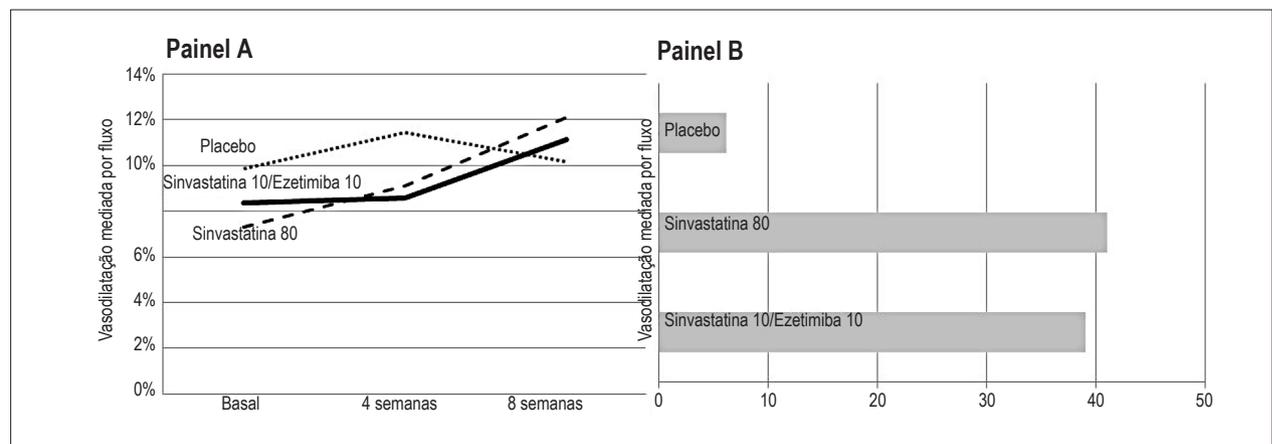


Figura 3 – Variação na vasodilatação mediada por fluxo, indicando aumento nos dois grupos ativos. Painel A: Gráfico de linhas mostra variação na vasodilatação com 4 e 8 semanas dos tratamentos; Painel B: Gráfico de barras mostra percentual de variação da vasodilatação do basal para oitava semana.

de alta dose. Desta forma, ao observar que ambas as terapias apresentaram o mesmo benefício na função endotelial, inferimos pela ausência do gradiente dose-reposta.

Além do resultado principal, alguns achados secundários merecem discussão. Primeiro, a presença de um grupo placebo que não apresentou mudança na função endotelial nos assegura que a melhora observada nos dois grupos de tratamento ativo não decorreu do fenômeno de regressão à média. Segundo, a correlação negativa entre a redução de

LDL-colesterol e a melhora da função endotelial representa mais um dado a favor do mecanismo hipolipemiante, ainda que tenha sido uma correlação de fraca magnitude e que esta análise, como se sabe, seja principalmente de cunho exploratório e não denote causalidade. Terceiro, observamos que a influência positiva na função endotelial ocorre de forma progressiva de acordo com o tempo de exposição, visto que os resultados tardios (8 semanas) foram melhores que os resultados precoces (4 semanas), a despeito do nadir

Tabela 5 – Efeito dos três tratamentos na vasodilatação mediada por fluxo

	Basal	8 Semanas	p	4 Semanas	p
<b>Sinvastatina 80</b>					
VMF (%)	8,4 ± 4,3	11 ± 4,2	0,02	8,6 ± 3,6	0,03
Varição da VMF		+ 39% (2,2% – 105%)		+ 27% (-13% – 63%)	0,09
<b>Sinvastatina 10/Ezetimiba</b>					
VMF (%)	7,3 ± 3,9	12 ± 4,4	0,001	9,1 ± 4,3	0,03
Varição da VMF		+ 41% (13% – 227%)		+ 25% (-4% – 92%)	
<b>Placebo</b>					
VMF (%)	9,8 ± 4,5	10 ± 4	0,28	11 ± 2,2	0,93
Varição da VMF		+ 9% (-6,6% – 56%)		+13% (-8% – 31%)	

Parênteses - intervalo de confiança de 95%. VMF: vasodilatação mediada por fluxo da artéria braquial.

de LDL-colesterol ter ocorrido às 4 semanas de tratamento. Quanto ao mecanismo anti-inflamatório, o tratamento não promoveu redução nos níveis de proteína C reativa em nenhum dos grupos, tornando menos provável que este tenha sido um mecanismo adicional de melhora da função endotelial.

A ausência de diferenças nas características clínicas entre os grupos, tanto basais (promovidas pelo processo de randomização), quanto ao longo do seguimento (confirmadas pela comparação intergrupos com 4 e 8 semanas), garantiu o controle de possíveis variáveis de confusão capazes de influenciar os resultados comparativos da variável desfecho. Os cuidados metodológicos adotados neste trabalho, especialmente os referentes à análise da VMF, também contribuíram no processo de validação interna.

Corroborar com nossos resultados o recente estudo de Westerink et al.<sup>14</sup> que demonstrou o mesmo impacto endotelial da sinvastatina em alta dose *versus* baixa dose associada à ezetimiba em indivíduos com síndrome metabólica, como também reportado anteriormente por Settergren et al.<sup>15</sup> em portadores de diabetes ou doença coronariana. Contrariamente, Liu et al.<sup>16</sup> obtiveram melhora da VMF apenas com maior dose de sinvastatina e sugeriram benefícios pleiotrópicos das estatinas baseados nos resultados de 4 semanas. A opção destes autores por observar apenas por um curto prazo pode ter impedido a observação de efeitos dependentes de maior tempo de tratamento.

Algumas limitações do presente estudo merecem reconhecimento. O método de aferição da VMF seguiu todas as etapas do protocolo recomendado pelo *International Brachial Artery Reactivity Task Force*<sup>12</sup>. Contudo, é inerente ao método grande variabilidade nas medidas, já que estas sofrem influência de inúmeros fatores externos. Tal variabilidade pode ser um fator

limitante da reprodutibilidade dos achados da VMF e, conseqüentemente, da sua interpretação. As circunferências mais largas dos braços das mulheres obesas poderiam ter trazido dificuldade técnica para a realização das medidas. Entretanto, este fator não interferiu nesta pesquisa, pois nós posicionamos o manguito do esfigmomanômetro no antebraço das pacientes, cuja circunferência é menor do que a do braço, deixando assim um campo maior para identificação da artéria braquial quando o transdutor estava posicionado no braço. Apesar da técnica automatizada ser mais robusta e acurada,<sup>17</sup> a técnica manual utilizada neste trabalho também é confiável e considerada viável para uso em diagnóstico e monitoramento da função endotelial.<sup>18</sup>

O trabalho foi realizado com uma amostra pequena, que consistiu apenas de mulheres com excesso de peso provenientes de um único ambulatório. Contudo, por ser um estudo pequeno, justifica-se a opção pela homogeneização da amostra com inclusão somente de mulheres. A seleção de mulheres com excesso de peso teve o intuito de incluir um grupo mais predisposto a alteração da função endotelial,<sup>19</sup> favorecendo a possibilidade de observar o efeito corretivo da terapia. A despeito da escolha deste tipo de amostra populacional ser justificável, devemos reconhecer que reduz a abrangência do estudo para a população geral. Também devemos lembrar que o desfecho deste estudo é substituto (objetivo puramente mecanicista), não podendo ser interpretado como evidência de que o efeito clínico das duas terapias é semelhante. Outra limitação está relacionada ao baixo poder estatístico e se refere ao fato de que para não detectarmos diferenças entre as variáveis precisaríamos de uma amostra muito grande, o que tornaria o estudo inviável. Além disso, a despeito das análises dos deltas das variações gerais (inclusive da própria VMF e do LDL-colesterol), verificamos não ter havido diferença entre os tratamentos. Estes achados podem ter sido influenciados por uma grande variabilidade das medidas, dificultando a análise estatística.

## Conclusão

Em conclusão, o presente ensaio clínico randomizado demonstrou que o mecanismo mais provável de melhora da função endotelial obtida com estatinas é a redução do LDL-colesterol, independente da dose de estatina utilizada. Neste contexto, os efeitos pleiotrópicos das estatinas têm menor relevância.

## Potencial conflito de interesse

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

## Fontes de financiamento

O presente estudo foi financiado pela FAPESB.

## Vinculação acadêmica

Este artigo é parte de tese de Doutorado de Maristela Magnavita Oliveira Garcia pela Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.

## Referências

1. Fonseca FA, Izar MC. Primary prevention of vascular events in patients with high levels of C-reactive protein: the JUPITER study. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2009;7(9):1041-56.
2. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet.* 1994;344(8934):1383-9.
3. Endo A. The discovery and development of HMG-CoA reductase inhibitors. 1992. *Atheroscler Suppl.* 2004;5(3):67-80.
4. Vaughan CJ, Murphy MB, Buckley BM. Statins do more than just lower cholesterol. *Lancet.* 1996;348(9034):1079-82. Erratum in: *Lancet.* 1997;349(9046):214.
5. Treasure CB, Klein JL, Weintraub WS, Talley JD, Stillabower ME, Kosinski AS, et al. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med.* 1995;332(8):481-7.
6. Guo H, Shi Y, Liu L, Sun A, Xu F, Chi J. Rosuvastatin inhibits MMP-2 expression and limits the progression of atherosclerosis in LDLR-deficient mice. *Arch Med Res.* 2009;40(5):345-51.
7. Obi C, Wysokinski W, Karnicki K, Owen WG, McBane RD 2nd. Inhibition of platelet-rich arterial thrombus in vivo: acute antithrombotic effect of intravenous HMG-CoA reductase therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29(9):1271-6.
8. Ridker PM, Cannon CP, Morrow D, Rifai N, Rose LM, McCabe CH, et al; Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 (PROVE IT-TIMI 22) Investigators. C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *N Engl J Med.* 2005;352(1):20-8.
9. Davidson MH, McGarry T, Bettis R, Melani L, Lipka LJ, LeBeaut AP, et al. Ezetimibe coadministered with simvastatin in patients with primary hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40(12):2125-34.
10. Sudhop T, Lutjohann D, Kodal A, Igel M, Tribble DL, Shah S, et al. Inhibition of intestinal cholesterol absorption by ezetimibe in humans. *Circulation.* 2002;106(15):1943-8.
11. Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin Chem.* 1999;45(12):2136-41.
12. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al; International Brachial Artery Reactivity Task Force. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39(2):257-65. Erratum in: *J Am Coll Cardiol.* 2002;39(6):1082.
13. Moens AL, Goovaerts I, Claeys MJ, Vrints CJ. Flow mediated vasodilation: a diagnostic instrument or an experimental tool? *Chest.* 2005;127(6):2254-63.
14. Westerink J, Deanfield JE, Imholz BP, Spiering W, Basart DC, Coll B, et al. High-dose statin monotherapy versus low-dose statin/ezetimibe combination on fasting and postprandial lipids and endothelial function in obese patients with the metabolic syndrome: the PANACEA study. *Atherosclerosis.* 2013;227(1):118-24.
15. Settergren M, Bohm F, Ryden L, Pernow J. Cholesterol lowering is more important than pleiotropic effects of statins for endothelial function in patients with dysglycaemia and coronary artery disease. *Eur Heart J.* 2008;29(14):1753-60.
16. Liu PY, Liu YW, Lin LJ, Chen JH, Liao JK. Evidence for statin pleiotropy in humans: differential effects of statins and ezetimibe on rho-associated coiled-coil containing protein kinase activity, endothelial function, and inflammation. *Circulation.* 2009;119(1):131-8.
17. Gemignani V, Fata F, Ghiadoni L, Poggianti E, Demi M. A system for real-time measurement of the brachial artery diameter in B-mode ultrasound images. *IEEE Trans Med Imaging.* 2007;26(3):393-404.
18. Meirelles Cde M, Leite SP, Montenegro CA, Gomes PS. Reliability of brachial artery flow-mediated dilatation measurement using ultrasound. *Arq Bras Cardiol.* 2007;89(3):160-83.
19. Esposito K, Pontillo A, Di Palo C, Giugliano G, Masella M, Marfella R, et al. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *JAMA.* 2003;289(14):1799-804.