



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Faculdade de Odontologia

MARIA JOSÉ DOMINGUES DE CASTRO

EFEITOS DA SINVASTATINA NA PRENHEZ DE RATAS



2011

MARIA JOSÉ DOMINGUES DE CASTRO

EFEITOS DA SINVASTATINA NA PRENHEZ DE RATAS

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia. Campus de São José dos Campos, UNESP- Univ. Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área Patologia.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Marchini

São José dos Campos

2011

Apresentação gráfica e normalização de acordo com: Alvarez S, Coelho DCAG, Couto RAO, Durante APM. Guia prático para Normalização de Trabalhos Acadêmicos da FOSJC. São José dos Campos: FOSJC/UNESP; 2010.

279i Castro, Maria José Domingues de
Efeitos da sinvastatina na prenhez de ratas / Maria José Domingues de Castro. __ São José dos Campos : [s.n.], 2011

45f. : il.

Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, 2011.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Marchini

1. Sinvastatina. 2. Gravidez. 3. Colesterol. 4. Aterosclerose.
I. Castro, Maria José Domingues de. II. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Odontologia de São José dos Campos. III. Título

tD12

AUTORIZAÇÃO

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

São José dos Campos, 07 de julho de 2011.

Assinatura :

Email: mazecastro@hotmail.com

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Leonardo Marchini (Orientador)

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos
UNESP – Univ. Estadual Paulista

Profa. Dra. Luciane Dias de Oliveira

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos
UNESP – Univ. Estadual Paulista

Profa. Dra. Márcia Sampaio Campos

Faculdade de Odontologia de Taubaté
Universidade de Taubaté - UNITAU

São José dos Campos, 7 de julho de 2011.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a pessoa que mais acreditou em mim, que mais cobrou de mim, que perseverou, que me deu a mão num momento de superação pessoal, que tem me ensinado muito mais pela postura e dignidade. Profa. Dra. Rosilene Fernandes da Rocha: pelo exemplo de disciplina e perseverança.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador que fez o melhor em todos os sentidos para que o experimento ficasse embasada em dados atuais e que trouxesse a pauta um assunto polêmico discutido mundialmente.

Agradeço a esta universidade maravilhosa da qual tenho orgulho de fazer parte.

Agradeço a minha mãe *in memoriam* pelo exemplo de nobreza e dignidade para com o marido e filhos. Que cumpriu na íntegra tudo que se comprometeu a fazer e o fez com primazia.

Agradeço também ao meu pai que com disciplina e determinação deu, juntamente com minha mãe, Faculdade e intercâmbio aos filhos.

Tenho orgulho de pertencer a minha família e ser mestranda desta Universidade.

Agradeço a todos os meus Mestres pela convivência, aprendizado e oportunidade de aprender muito mais assistindo suas aulas e assimilando suas orientações.

Valeram todos os momentos em aula onde participei de dinâmicas junto aos alunos e colegas de mestrado.

Aprender é uma dádiva que nos trás alegria, satisfação e sabedoria. Nem sempre é fácil, requer desprendimento, humildade, saber ouvir, admirar o trabalho do próximo e reconhecer quanto este buscou para trazer ao aluno a aula coerente e facilitar o aprendizado e compreensão dos mesmos. É ensinando que aprendemos muito mais, pois buscamos matéria que servirá de embasamento a aula e enriquecerá o nosso conhecimento. Pois foi elaborando aulas que aprendi muito mais e ao expô-las aos mestres e colegas corrigir meus erros e

posturas. Tudo é aprendido. Na verdade todos somos alunos e mestres, ora um ora outro. Humildade faz parte do aprendizado e faz toda a diferença, pois podemos aprender até com o exemplo de uma criança, que sorri ao nos ver chegar. O importante é estarmos abertos ao aprendizado da vida que dá uma única chance, sem reprise.

Por isso melhor fazer certo desde a primeira vez sempre. Ninguém faz para dar errado “fracasso não são pessoas e sim situações que precisam ser elaboradas ou comprometeram uma vida toda. Mas se bem elaboradas serviram de alicerce para o crescimento” Mas agradeço principalmente aos mestres que me ensinaram mais pelo exemplo, pelo desprendimento e pela postura que por palavras ou atos.

Aprendi a ter disciplina, enfrentar cronogramas, apresentar resultados, conviver com mestres e colegas e ganhei muito com isso. Saí mais rica, de bem com a vida, bem de vida. Riqueza não é só o que temos no banco, mas também o amor incondicional que aprendemos a assimilar e sentir aceitando e respeitando o próximo como ele é, com sua bagagem pessoal de uma vida toda. Amor pelos mestres, pela disciplina, pela matéria, pelo conteúdo do programa e da Universidade que tanto amo e tenho orgulho de pertencer. Amém!

*“Então Abisai, filho de Zerua disse ao rei Davi: _por que esse cão morto o amaldiçoa senhor? Permita que eu lhe corte a cabeça! -Que é que vocês têm com isso, filhos de Zerua? Ele me amaldiçoa por que o Senhor permitiu que ele amaldiçoasse Davi! Portanto quem poderá questioná-lo? Até meu filho, sangue do meu sangue, procura matar-me. Quanto mais esse benjamita! Deixem-no em paz! Pois foi O Senhor que o permitiu! Talvez o Senhor considere minha aflição e me retribua com benção a maldição que hoje recebo. “
Samuel 16:17*

SUMÁRIO

RESUMO.....	08
ABSTRACT.....	09
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
3 PROPOSIÇÃO.....	21
4 MATERIAL E MÉTODO.....	22
4.1 Animais.....	22
4.2 Acasalamento dos animais e diagnóstico de prenhez.....	22
4.3 Grupos experimentais.....	24
4.4 Administração do medicamento.....	24
4.5 Cesariana e análise dos cornos uterinos e fetos.....	25
4.6 Análise dos fetos.....	28
4.7 Análise estatística.....	30
5 RESULTADOS.....	31
5.1 Peso dos animais.....	29
5.2 Número de implantações uterinas.....	29
5.3 Número de reabsorções uterinas.....	30
5.4 Comprimento e peso dos fetos.....	31
6 DISCUSSÃO.....	34
7 CONCLUSÃO.....	38
8 REFERÊNCIAS.....	39
ANEXO.....	45

Castro MJD. Efeitos da sinvastatina na prenhez de ratas [dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP – Univ. Estadual Paulista; 2011.

RESUMO

Devido ao aumento na taxa de óbitos relacionados à aterosclerose e AVC a sinvastatina tornou-se o medicamento eleito pelo SUS, por sua eficácia no combate às altas taxas de colesterol plasmático e diabete melitos. Enfermidades estas, decorrentes tanto de histórico familiar de hipercolesterolemia, quanto devido a hábitos de vida sedentária e de alimentação desregrada, que vem acometendo adultos jovens e mulheres em idade fértil; que já fazem uso de um ou mais medicamentos. Associado às vezes a uma gravidez não planejada, afetando também o feto. Inúmeros trabalhos têm sido feitos com o intuito de conhecer melhor sobre a atuação desse fármaco utilizado durante o período gestacional, tanto que, diversos medicamentos em princípio são contra indicados, principalmente nos primeiros três meses. Entretanto a sinvastatina, embora controversa a sua contra indicação, é o fármaco de escolha nos postos de saúde e essas jovens mulheres grávidas estão fazendo uso dos mesmos. O objetivo desse trabalho foi o de fornecer maior embasamento a essa contra indicação. Foram utilizadas 24 ratas em período gestacional, onde desde o primeiro dia da prenhez confirmada as mesmas receberam por gavagem o fármaco manipulado pela farmácia de manipulação “A Especialista”. Os animais foram divididos em 4 grupos: as ratas controle, que receberam óleo de amêndoas doce e as ratas que receberam 10, 20 e 40 mg/kg de sinvastatina diariamente. Os resultados foram plotados em planilhas do Excel e submetidos aos testes estatísticos não paramétricos e serviram para corroborar a contra indicação do fármaco pois houve aumento significativo do número de reabsorções fetais nos cornos uterinos comprometendo a prenhez, reduzindo o número de fetos gerados nas ratas que receberam 40 mg/kg, além de diminuir o peso e comprimento dos fetos em geral.

Palavras-chave: Sinvastatina. Gravidez. Colesterol. Aterosclerose.

Castro MJD. *Simvastatin effects during rats pregnancy [dissertation]. São José dos Campos: School of Dentistry of São José dos Campos, UNESP – Univ. Estadual Paulista; 2011.*

ABSTRACT

Simvastatin is currently the medicine chosen actually due to high atherosclerosis death index and its effectiveness in combating high rates of plasma cholesterol and diabetes mellitus. Diseases caused both by family histories of hypercholesterolemia as well, due to sedentary lifestyles and eating disorders, which are affecting young adults and women of childbearing age who, due to this family history, had used one or more drugs which interact intensifying their effect, associated some times to, an unplanned pregnancy, and drug interaction, affecting both. Several studies have been done in order to learn and get better foundation about the actions of these drugs during pregnancy, so that several medications, in principle, are contraindicated. However simvastatin, controversial contraindication, is the chosen drug in health care, and those pregnant women with a family history of hypercholesterolemia are making use of them. Therefore, the purpose of this study is to confirm this contraindication. The sample consisted of 24 female rats with confirmed pregnancy from day one. The entire sample received by gavage the drug - manipulated by the Specialist pharmacy. The animals were divided into four groups: 1. control (SC), where the rats received sweet almond oil and three other groups (S10, S20 and S40) where the rats received simvastatin 10, 20 and 40 mg / kg daily, respectively. The results were plotted in an excel spreadsheet and submitted to a nonparametric statistical test. They served to confirm our initial goal confirming the simvastatin contraindication drug due to uterine resorption increased number reducing little rats number, weight and size. Thus compromising pregnancy.

Keywords: Simvastatin. Pregnancy. Cholesterol. Atherosclerosis.

1 INTRODUÇÃO

A hiperlipidemia é importante causa da aterosclerose e das condições a ela associadas tais como coronariopatia, doença cerebrovascular isquêmica e insuficiência vascular periférica, condições que contribuem para o aumento da morbidade e da mortalidade entre adultos e idosos jovens (Goodman, Gilman, 2010).

As dislipidemias –aumento de lípides no sangue - incluindo a hiperlipidemia (hipercolesterolemia) e os baixos níveis de colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-C) representam causas determinantes para a aterogênese elevada. Os distúrbios genéticos e o estilo de vida (comportamento sedentário e dietas ricas em calorias, gorduras saturada e colesterol) contribuem para as dislipidemias encontradas nos países desenvolvidos (Goodman, Gilman, 2010).

Uma estatina de primeira geração, largamente prescrita por médicos para atuar no controle dos níveis de colesterol sanguíneo é a Sinvastatina. O estudo do aspecto toxicológico deste fármaco é, portanto, de grande importância, devido à sua utilização em larga escala no controle das dislipidemias. É a substância eleita no Sistema Único de Saúde (SUS) para atuar - por exemplo - na redução dos níveis de colesterol (Andrade et al., 2004).

Devido ao histórico familiar de hipercolesterolemia, diabete melitos e doenças cardiovasculares ateroscleróticas, mulheres jovens em idade fértil têm sido candidatas a fazerem uso de estatinas. No entanto, prescrever medicamentos para gestantes requer um cuidado especial, principalmente pelos possíveis efeitos dos fármacos sobre o feto. Estima-se que cerca de 90% das gestantes utilizem pelo menos um medicamento e cerca de 60% utilizam mais de uma medicação,

aumentando o risco de interações medicamentosas e de efeitos adversos decorrentes do uso inadequado (Mendes, Figueiredo, 2000).

Considerando que grande parte das gestações não é planejada, muitas mulheres que já fazem uso rotineiro de medicamentos podem estar expostas a fármacos com potencial teratogênico –indutor de malformação fetal- exatamente no período mais crítico que corresponde ao início da gravidez, quando os possíveis riscos de malformação fetal por exposição aos medicamentos são mais elevados, principalmente no primeiro trimestre gestacional. Durante a gestação, também ocorrem alterações fisiológicas de grande importância para a farmacologia, uma vez que a absorção, distribuição, biotransformação e eliminação de fármacos ficam alteradas. Tais alterações poderão influenciar na concentração sérica dos medicamentos e seus metabólitos ativos, que chegarão até o feto (Perlman et al., 2001; Andrade et al., 2004).

Edison e Muenke (2004), Kenis et al. (2005) contra-indicam o uso de estatinas na gestação. Entretanto, há dados conflitantes quanto a esta afirmação, fato que aponta para a necessidade de maiores pesquisas para avaliar adequadamente os efeitos deletérios e teratogênicos- indutores de malformação fetal- destes medicamentos.

Imprescindível, portanto verificar a atuação da sinvastatina na prenhez das ratas observando os seguintes parâmetros: implantações uterina, reabsorções uterinas, e demais alterações nos fetos tais como peso, tamanho e possível má formação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Ao longo de décadas, a terapêutica medicamentosa durante a gravidez tem sido objeto de numerosas publicações. Fato esse que possibilitou um maior conhecimento sobre as alterações fisiológicas que ocorrem na mulher nesse período, permitindo maior atuação dos fármacos, por estarem na forma ativa por mais tempo e do mesmo atravessar a placenta e atingir o feto. Além dos efeitos dessas substâncias sobre a organogênese do feto e dos riscos teratogênicos dos mesmos (Young, 2000; Andrade et al., 2004).

De acordo com Fuchs et al., 2006, o medicamento ingerido pela gestante pode afetar o feto, atuando diretamente no mesmo, causando dano, desenvolvimento anormal ou morte; alterando a função da placenta, devido à constrição dos vasos sanguíneos e consequente redução de troca de nutrientes e oxigênio entre a mãe e o feto; ou mesmo causando contração do músculo uterino, reduzindo o suprimento sanguíneo para o feto. Neste contexto, as principais alterações fisiológicas que afetam diretamente a cinética dos medicamentos na gestante e que devem ser levadas em consideração são: o retardo no esvaziamento gástrico e a diminuição da motilidade gastrintestinal, fazendo com que o fármaco permaneça por mais tempo no trato gastrintestinal, resultando numa maior absorção e consequente atuação do mesmo por mais tempo (Andrade et al., 2004; Andrade, 2006; Fuchs et al., 2006).

Outra importante mudança farmacocinética na gestação é a diminuição relativa das proteínas plasmáticas, fazendo com que a quantidade de medicamento na forma não ligada ativa seja maior, podendo haver potencialização do seu efeito. Ocorre também o aumento da volemia – quantidade de sangue circulante no indivíduo- débito

cardíaco e fluxo plasmático renal, alteração no metabolismo hepático e aumento da diurese, fatores estes que alteram a concentração dos metabólitos ativos circulantes (Tracy et al., 2005 ; Fuchs et al., 2006).

O primeiro trimestre de gestação é de extrema importância, pois este período coincide com a fase de maior efeito teratogênico (terato= monstro, deformação) de fármacos que causam malformações congênicas (Kenis et al., 2005). Conforme Fig 01. abaixo:

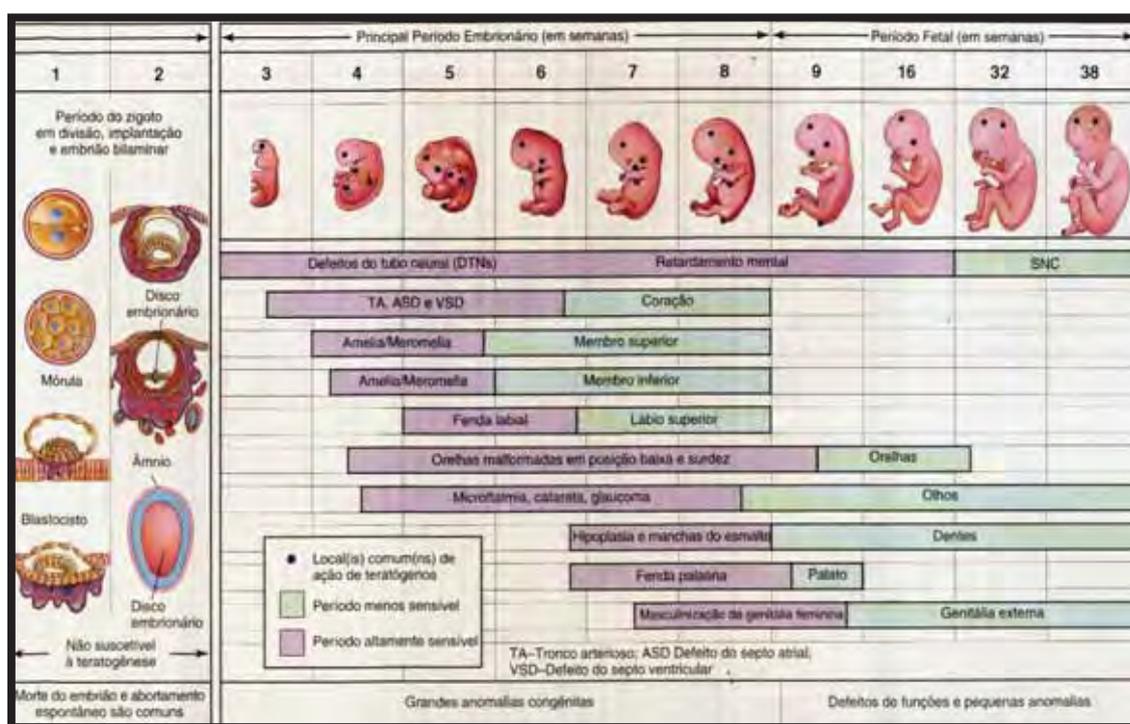


Figura 01- Desenvolvimento humano.

Fonte: Moore, Keith L. e T.V.N. Persaud no livro: The Developing Human: Clinically Oriented Embryology (5th ed.;1993), Philadelphia: W.B. Saunders.

Uma pesquisa realizada com 1000 gestantes demonstrou que 94,6% das entrevistadas utilizavam algum medicamento durante a gravidez e 46,1% os utilizaram no primeiro trimestre. Em geral, 50% dos abortos acontecem nesse trimestre e os casos de malformações no sistema nervoso central e coração são também decorrentes de injúrias

nessa fase (Vilela-Goulart et al., 1999a, 1999b; Ten Cate, 2001; Fonseca et al., 2002; Leite et al., 2005).

No segundo e terceiro trimestre de gestação também é possível ocorrer malformações fetais relacionadas à formação de órgãos especializados, desordens funcionais, redução de peso e até mesmo carcinogênese (Ten Cate, 2001; Tracy et al., 2005).

Devido a tragédias históricas como a da talidomida e de outros medicamentos com potencial teratogênico de grande uso médico, como a isotretinoína, o fenobarbital e o metotrexato, a Organização Mundial da Saúde estabeleceu uma classificação dos medicamentos em categorias de risco para uso na gestação, como pode ser observado no Quadro 01 (Vilela-Goulart et al., 1999 a, 1999b; Machado et al., 2003; Kinder et al., 2005; Sihany Filho, 2006; Fuchs et al., 2006; Carta et al., 2007; Santis et al., 2007).

Dentre esses fármacos classicamente considerados de risco e que afetam, de alguma maneira, os processos odontológicos, pode-se mencionar o metronidazol, a tetraciclina, o lorazepam, o ácido acetilsalicílico, a prilocaína, o verapamil, entre outros. Todavia, ainda existem muitos fármacos com poucas evidências quanto à segurança durante a gestação (Rocha et al., 1998; Vilela-Goulart et al., 1999a, 1999b; Machado et al., 2003).

Quadro 01– Classificação da FDA de risco de medicamentos na gestação. (Edison, Muenke, 2004)

A	Não há evidências de riscos em mulheres.
B	Não há estudos adequados em mulheres. Em animais não houve riscos.
C	Não há estudos adequados em mulheres. O benefício potencial pode justificar o risco potencial.
D	Não há evidência de riscos em fetos humanos. Só usar se o benefício potencial justificar o risco potencial.
X	Estudos revelam risco para o feto. Os benefícios não justificam os riscos. Não usar em hipótese alguma

Um medicamento que faz parte desse conjunto de fármacos pouco estudado na gestação é a sinvastatina, uma estatina prescrita para o tratamento de dislipidemia, inclusive para mulheres em idade fértil com hipercolesterolemia familiar, diabetes melitos com aterosclerose e doenças cardiovasculares (Campo, Carvalho, 2007; Martins, Silva, 2007). A sinvastatina é utilizada para reduzir os níveis plasmáticos elevados de colesterol total, LDL-colesterol, a lipoproteína B e triglicérides em pacientes com hipercolesterolemia primária e hipercolesterolemia familiar heterozigótica; retardando a progressão da aterosclerose coronariana, incluindo a redução do desenvolvimento de novas lesões e de novas oclusões em pacientes com doenças coronarianas. Este fármaco também é indicado para reduzir o risco de morte por doença coronariana e de infarto do miocárdio não-fatal, na redução do risco de acidente vascular encefálico, de ataques isquêmicos transitórios e em procedimentos de revascularização de miocárdio (Fonseca, 2005; Campo, Carvalho, 2007; Sposito et al., 2007).

Os níveis séricos de colesterol e LDL são os parâmetros de diagnóstico de risco dessas doenças. Em indivíduos com até 160 mg/dL, recomenda-se mudar o estilo de vida por seis meses, antes de iniciar uma terapia medicamentosa. Quando há fatores de risco associado, este valor reduz para 130 mg/dL ou mesmo 100 mg/dL, e na grande maioria das vezes, a medicação, geralmente uma estatina, é associada à dieta e mudança de estilo de vida (Campo, Carvalho, 2007; Sposito et al., 2007).

As estatinas foram descobertas em 1971 por Akira Endo, mediante observação de cogumelos tóxicos a animais. Em 1975, este pesquisador isolou a primeira estatina de um fungo, o *Penicillium brevicompactum*. A mevastatina, então descoberta, foi a primeira molécula de estatina destinada a redução do colesterol com ação na hidroximetilglutaril-coenzima-A redutase (HMG-CoA redutase). (Magalhães, 2005; Viegas et al., 2006).

A sinvastatina, uma estatina descoberta em 1978, atua também pela inibição da HMG-CoA redutase, enzima importante na síntese do colesterol que, quando inibida, reduz o colesterol tecidual e conseqüentemente aumenta a expressão dos receptores de LDL. Estes fármacos são, em sua maioria, metabolizados por enzimas microssomais, especialmente o citocromo P450-3A4 e sofre extenso metabolismo de primeira passagem no fígado (Beltran, 2004; Fonseca, 2005; Viegas et al., 2006). O mecanismo de ação da estatina se dá pela afinidade deste fármaco com o sítio ativo da enzima, que cataliza a conversão da HMG-CoA a ácido mevalônico, precursor do colesterol. A inibição da HMG-CoA redutase é reversível e competitiva com o substrato HMG-CoA, sendo a lipossolubilidade, uma das características das estatinas que garantem a grande seletividade de atuação das mesmas (Magalhães, 2005).

Foi demonstrado em humanos que a magnitude da inibição desta enzima, difere substancialmente entre as estatinas e que a sinvastatina está entre as cinco primeiras estatinas que mais inibem a

HMG-CoA redutase, diferenciando-se dos outros fármacos com o mesmo mecanismo de ação, pela ligação às proteínas plasmáticas, pela biotransformação e pelo grau de inibição da HMG-CoA redutase. As estatinas são inibidores competitivos da enzima HMGR bastante potentes, prova disto é que a afinidade de HMG-CoA redutase por mevastatina e lovastatina é, respectivamente, 7140 e 16700 vezes superior que pelo substrato (Taggart et al., 2001; Campo, Carvalho, 2007).

O colesterol é um componente esteróide da membrana celular e um precursor fundamental dos hormônios andrógenos, estrogênios, progesterona e adrenocorticóides. A redução dos níveis de LDL acompanha a diminuição de colesterol plasmático. Assim, as estatinas, além da ação hipocolesterolêmica, também induzem o aumento de receptores de LDL hepáticos, contribuindo para redução dos níveis de LDL plasmático. Desta maneira, os inibidores de HMG-CoA redutase possuem dupla ação, levando à redução da biosíntese de colesterol e à remoção de LDL circulantes (Campo, Carvalho, 2007).

Atualmente tem-se visto que, independente da redução do colesterol sérico, as estatinas possuem outros efeitos no organismo, conhecidos como efeitos pleiotrópicos, geralmente mediados pela inibição de isoprenóis, ligantes lipídicos para moléculas envolvidas em processo de sinalização celular. Estes efeitos incluem a ação reguladora na função endotelial, principalmente pela estimulação e sub-regulação da enzima óxido-nítrico sintetase, aumentando a concentração de óxido nítrico derivado de endotélio, que parece inibir vários componentes de processos aterogênicos, por exemplo, mediando relaxamento vascular e inibição de agregação plaquetária. Outra característica das estatinas está na regulação da função endotelial, com a capacidade de aumentar o número de células endoteliais progenitoras circulantes, além de induzir angiogênese através da proliferação, migração e sobrevivência destas células endoteliais circulantes (Dimmeler et al., 2001; Rosendo et al., 2007; Torres et al., 2007).

Rosendo et al. em 2007, verificaram o aumento da estabilidade das placas ateroscleróticas, diminuição da inflamação e do estresse oxidativo, além da diminuição da resposta trombogênica associada a capacidade de reduzir o número de células inflamatórias em placas ateroscleróticas que contribuem também com a ação das estatinas nos lipídios .

Estes mecanismos estão relacionados à inibição de moléculas de adesão intercelular (ICAM-1), que por sua vez, estão ligadas ao recrutamento de células inflamatórias. Além destes, as estatinas possuem efeitos extra-hepáticos benéficos no sistema imune, sistema nervoso central e ósseo (Vaughan et al., 2000; Kureish et al., 2000; Dimmeler et al., 2001; Liao, Laufs, 2005).

Apesar das ações benéficas das estatinas, surgiu a dúvida quanto aos riscos deste medicamento durante a gestação, e a partir deste questionamento pesquisadores, baseados em relatos de casos e estudos com modelo animal, determinaram em 2005, por um informativo da Organização Mundial da Saúde, que as estatinas em geral, fossem transferidas para a categoria “D” de risco dos medicamentos na gestação (Edison, Muenke, 2004; Taguchi et al., 2008).

Um estudo posterior a esta determinação, realizado em 2007 por Benjamin et al. não encontrou evidências de um aumento do risco de anomalias fetais no primeiro trimestre da gravidez em pacientes que fazem uso de estatinas. Todavia, outro levantamento conduzido por Kenis et al., (2005) sugere a possibilidade de anormalidades congênitas do SNC e membros, se ocorrer a exposição intensa e com doses elevadas de estatinas lipofílicas durante o primeiro trimestre da gestação. Em estudos com animais, observou-se que a dose necessária para produzir efeitos teratogênicos seriam doses tóxicas para o ser humano, porém não há comprovação científica suficiente, até o momento, para afirmar que as estatinas são seguras para uso durante a gestação (Edison, Muenke, 2004; Pollack et al., 2005, Taguchi et al., 2008).

Vários medicamentos podem influenciar a embriogênese e provocar malformações congênitas. Com relação aos tecidos dentários, durante sua fase de desenvolvimento embrionário, os mesmos são presumivelmente suscetíveis aos efeitos de medicamentos, tal como ocorre com outros tecidos proliferativos (Fonseca et al., 2002; Kenis et al., 2005; DeSimone et al., 2006).

A sinvastatina é um fármaco altamente ligado às proteínas plasmáticas, uma vez que aproximadamente 95% deste medicamento está na forma ligada e sua eliminação é praticamente hepática (90%), somente cerca de 10% da sinvastatina é eliminada via fezes/urina. Por esta razão, pode-se supor que há influência da gestação na cinética deste fármaco, elevando sua concentração sérica e potencializando seu efeito (Silva, 2002; Marzolini et al., 2004, Taguchi et al., 2008).

As estatinas também atravessam a barreira placentária e podem interferir no metabolismo fetal e, considerando que os produtos do metabolismo do colesterol são essenciais para o desenvolvimento fetal, na síntese de hormônios e formação da membrana celular, podemos considerar a hipótese da ocorrência de malformações congênitas em fetos de gestantes que utilizam estatinas (Edison, Muenke, 2004; Rombaldi et al., 2005; Pollack et al., 2005, Taguchi et al., 2008).

Com base nestas dúvidas, que ainda persistem sobre a segurança da sinvastatina na gestação, este projeto se propõe a investigar a influência da ingestão de diferentes dosagens de sinvastatina ministradas em ratas - por via oral (gavagem) - durante a prenhez.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes doses de sinvastatina ministradas durante o período gestacional em ratas, onde os seguintes parâmetros foram considerados: pontos de implantações uterinas, pontos de reabsorções uterinas, alterações no peso inicial e final das ratas, número de fetos gerados, tamanho e peso dos mesmos.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Animais

Para este trabalho foram utilizados 24 ratas (*Rattus norvegicus*, variação albinus, Wistar), com aproximadamente 3 meses de idade, pesando cerca de 250 g, e 10 machos adultos (os quais foram utilizados somente para acasalamento).

Os animais foram fornecidos pelo Biotério da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP e mantidos em gaiolas a temperatura ambiente e alimentados com ração e água.

O presente trabalho foi realizado de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP – protocolo 05/2011-PA/CEP. (Anexo A)

4.2 Acasalamento dos animais e diagnóstico de prenhez

As ratas foram colocadas na mesma gaiola dos machos para acasalamento sempre ao final do dia, permanecendo juntos até a manhã do dia seguinte, quando o material vaginal era colhido para verificação da presença de espermatozoides.

A verificação do início da prenhez era realizada obtendo-se o esfregaço vaginal, com a utilização de uma cureta que, depois de flambada, era colocada em uma solução de NaCl 0,9%, e introduzida na vagina da rata.

O material colhido era espalhado em uma lâmina de vidro e, mediante observação ao microscópio óptico, era verificada a presença de espermatozoides determinando a fase estro do ciclo estral (Figura 2). Este critério foi o fator de diagnóstico positivo da prenhez, sendo então considerado este o dia zero. (Kato et al., 1979). Após o diagnóstico positivo de prenhez, as ratas foram separadas ao acaso nos grupos relacionados abaixo.



Figura 2- Foto representativa do esfregaço vaginal comprovando prenhez.

4.3 Grupos experimentais

Os animais foram divididos em 4 grupos: o controle e os tratados com sinvastatina em três doses crescentes, conforme o Quadro 2 intitulado Grupos experimentais.

Quadro 2– Grupos experimentais

Grupo Controle	Composto de 06 ratas prenhas, tratadas com água e dieta sólida à vontade;
Grupo 1	Composto de 06 ratas prenhas, tratadas com sinvastatina na dose de 10 mg/kg
Grupo 2	Composto de 06 ratas prenhas, tratadas com sinvastatina na dose de 20 mg/kg
Grupo 3	Composto de 06 ratas prenhas, tratadas com sinvastatina na dose de 40 mg/kg;

Ao final do tratamento que foi de 21 dias (equivalendo ao período gestacional), as ratas foram submetidas à cesariana, os cornos uterinos e os fetos foram removidos e analisados.

4.4 Administração do medicamento

A sinvastatina foi fornecida diariamente- por gavagem- a partir da constatação da gestação até o dia da cesariana, agendado sempre para o vigésimo primeiro dia condizendo com o período gestacional das ratas que é de vinte e um dias. O medicamento manipulado pela farmácia “A especialista” foi ministrado por gavagem nas doses de 10, 20 e 40 mg/kg diariamente (Figura 2) com o auxílio de uma

seringa e agulha própria para este fim (Anbinder et al., 2006; Torres et al., 2007).



Figura 3- Foto representativa da administração de sinvastatina por gavagem.

4.5 Cesariana e análise dos cornos uterinos e fetos

No vigésimo primeiro dia da prenhez, as ratas foram anestesiadas via intramuscular com uma solução de cloridrato de xilazina 2,3 g/100 mL - 13 mg/kg, e cloridrato de quetamina 1,16 g/10 mL- 33 mg/kg, da qual foram ministrados 0,1 mL/100g a cada rata. Após anestesia, os animais foram pesados e colocados em decúbito dorsal em uma placa de cortiça, onde foi feita uma incisão abdominal, expondo os cornos uterinos, possibilitando a contagem do número de implantações e pontos de reabsorções e o número de filhotes presentes em cada corno uterino. Após a contagem de todos os fetos, cinco deles foram acondicionados em formol e soro fisiológico para posterior estudo. Todos

entretanto passaram por análise macroscópica e verificação de possíveis malformações externas.

4.6 Análise dos fetos

4.6.1 Análise macroscópica dos fetos

Após o nascimento, os filhotes foram limpos, medidos com auxílio de paquímetro (Starrett 727) conforme (Figura 4), pesados conforme (Figura 5) em balança analítica (Tecnal) e avaliados quanto à presença de malformações macroscópicas.



Figura 4 – Foto representativa da medida do comprimento de fetos com auxílio de um paquímetro.



Figura 5 – Foto representativa da pesagem de fetos em balança analítica Tecnal.

4.7 Análise estatística

Todos os dados foram compilados numa única tabela que constou do peso inicial e final das ratas, o número de implantações e reabsorções uterinas de cada rata, o número de fetos gerados por cada rata, média dos pesos e medidas dos fetos de cada rata. Pode-se desta forma correlacionar todos esses dados pareando-os e submetendo-os à análise de variáveis não paramétricas com nível de significância de 10%. Correlação de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

5 RESULTADOS

5.1 Peso dos animais

A Tabela 1 apresenta os resultados descritivos do peso inicial e final das ratas, na qual pode ser observado que houve certo ganho de peso em todos os grupos.

Tabela 1- Descrição das médias e desvio-padrão dos pesos iniciais e finais em todos os grupos

Peso	Grupo controle	S10	S20	S40
Peso inicial	233,3±12,1	238,3±11,7	246,7±5,2	260,0±39,0
Peso final	300,0±14,1	320,0±28,3	341,7±38,2	296,7±44,6



Figura 6- Compara Peso Inicial e Final em cada Grupo

5.2. Número de implantações uterinas

A Tabela 2 apresenta os resultados referentes ao número de implantações, na qual pode ser observado não houve

diferença significativa no número de implantações fetais entre os grupos experimentais (Teste de Kruskal-Wallis).

Tabela 2- Descrição do número de implantações fetais em todos os grupos

Implantações fetais	Grupo Controle	S10	S20	S40
Média±DP	12,3±2,3	10,3±2,2	13,3±3,7	12,81,9
Mediana	12	11	15	13



Figura 7- Compara Grupos em Implantações

5.3 Número de reabsorções

A Tabela 3 apresenta os resultados referentes ao número de reabsorções fetais, na qual pode ser observado que houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Teste de Kruskal-Wallis).

Tabela 3- Descrição do número de reabsorções fetais em todos os grupos. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa (Teste de Kruskal-Wallis)

Número de reabsorções fetais	Grupo Controle	S10	S20	S40
Média	1,83	1,00	1,50	4,67
Mediana	0,0	0,5	1,0	4,5
Desvio Padrão	2,99	1,26	1,76	0,82*



Figura 8- Compara Grupos em Nº de Reabsorções Fetais uterinas

Na Tabela 4, foi realizada a comparação pareada de todos os grupos para determinar com precisão entre quais houve diferença quanto às reabsorções fetais, utilizando o Teste de Mann-Whitney. Deste modo, foi evidenciado que a diferença está na comparação do grupo S40 e os demais grupos.

Tabela 4- Comparação dos valores de p entre os grupos para reabsorções fetais. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa (Teste de Mann-Whitney)

	Grupo Controle	S10	S20
S10	1,000		
S20	0,929	0,668	
S40	0,081*	0,003*	0,007*

5.4. Comprimento e peso dos filhotes

A Tabela 5 apresenta a descrição da média do comprimento (cm) dos fetos para todos os grupos. Na tabela pode ser observado ainda que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto às médias de comprimento dos fetos (Teste de Kruskal-Wallis), embora o valor de p tenha se aproximado do nível de significância, indicando tendência à diferença.

Tabela 5- Descrição da média do comprimento em cm dos fetos em todos os grupos. (Teste de Kruskal-Wallis)

Comprimento dos fetos	Grupo Controle	S10	S20	S40
Média	3,98	3,74	3,60	3,61
Mediana	3,9	3,7	3,5	3,6
Desvio Padrão	0,20	0,10	0,59	0,28

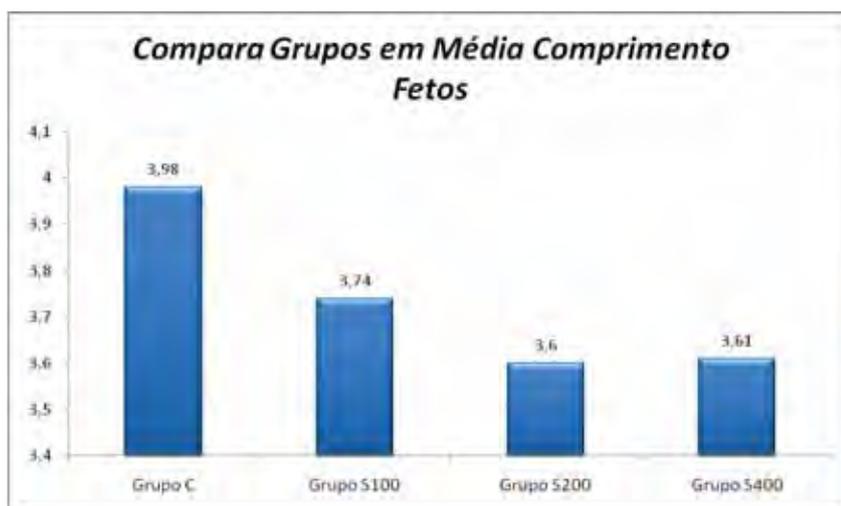


Figura 9- Compara Grupos em Média Comprimento Fetos

A Tabela 6 apresenta a descrição da média do peso dos fetos entre todos os grupos, na qual pode ser observado que houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Teste de Kruskal-Wallis).

Tabela 6- Descrição da média de peso dos fetos em todos os grupos. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa (Teste de Kruskal-Wallis)

Media de peso dos fetos	Grupo Controle	S10	S20	S40
Média	4,28	3,58	3,36	3,10
Mediana	3,9	3,6	2,8	3,1
Desvio Padrão	0,92	0,16	1,54	0,43



Figura 10- Compara Grupos em Média do Peso dos Fetos

Na Tabela 7, foi realizada a comparação de todos os grupos pareados para determinar com precisão entre quais houve diferença quanto à média de peso dos fetos, utilizando o Teste de Mann-Whitney. Deste modo, foi evidenciado que a diferença está na comparação entre o grupo S10 e o grupo controle e entre S40 e os grupos controle e S10.

Tabela 7-. Comparação dos valores de p entre os grupos para a média de peso dos fetos. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa (Teste de Mann-Whitney)

	Grupo Controle	S10	S20
S10	0,006*		
S20	0,200	0,423	
S40	0,004*	0,037*	0,748

6 DISCUSSÃO

A sinvastatina apresenta-se aproximadamente 95% na forma ligada a proteínas plasmáticas e sua eliminação é 90% hepática. Deste modo a gestação provavelmente modifica a cinética deste fármaco, elevando sua concentração sérica e potencializando seu efeito (Leal et al., 2001; Silva, 2002; Marzolini et al., 2004). As estatinas também atravessam a barreira placentária, afetando a cadeia metabólica do colesterol, o que pode causar importantes modificações no metabolismo lipídico, afetando o desenvolvimento dos fetos (Edison, Muenke, 2004; Rombaldi et al., 2005; Pollack et al., 2005).

No entanto, Benjamin et al. (2007) não encontraram evidências de um aumento do risco de anomalias fetais no primeiro trimestre da gravidez em pacientes que fazem uso de estatinas. De modo distinto, Kenis et al., (2005) sugerem a possibilidade de anormalidades congênitas do SNC e membros, se ocorrer a exposição intensa e com doses elevadas de estatinas lipofílicas durante o primeiro trimestre da gestação.

O presente trabalho corrobora com os achados de Kenis et al., (2005), pois foi possível observar um maior número de reabsorções fetais nos grupos que utilizaram sinvastatina na dose de 40mg/kg, quando comparados ao grupo controle. Do mesmo modo, houve tendência à diminuição do comprimento dos fetos nos grupos tratados com sinvastatina, bem como o peso dos fetos foi significativamente menor nos grupos tratados quando comparados ao grupo controle, demonstrando efeito negativo, da sinvastatina nesses parâmetros de desenvolvimento fetal.

Tal fato provavelmente deve-se à capacidade das sinvastatinas de atravessarem a barreira placentária, podendo desse modo afetar a cadeia metabólica do colesterol nos fetos (Edison, Muenke, 2004; Rombaldi et al., 2005). Considerando que a cadeia metabólica do colesterol tem implicações em praticamente todo o metabolismo lipídico, podem ocorrer importantes modificações dos mecanismos celulares e teciduais dependentes destes compostos, afetando assim o desenvolvimento dos fetos (Pollack et al., 2005).

Assim, o presente trabalho também chama a atenção para a necessidade de coibir o uso indiscriminado deste fármaco em mulheres jovens, em período fértil, e seus resultados indicam que, em pacientes com este perfil, o uso da sinvastatina deve ser avaliado com cautela.

No entanto, deve ser considerada a amostra pequena (apenas 06 ratas em cada grupo) como fator limitante da interpretação do presente trabalho. A amostra pequena determinou a utilização de um nível de significância relativamente alto (10%, quando normalmente se utiliza 5%), fato que constrange o poder estatístico do experimento, limitando a sua abrangência, mas não a sua validade interna.

Além disso, a dose de sinvastatina ministrada nos grupos experimentais foi relativamente alta (10, 20 ou 40 mg/Kg, na dependência do grupo experimental). Esta dosagem pode ser considerada bem acima daquela utilizada clinicamente em humanos, a qual geralmente se inicia com 5 mg ao dia (para um indivíduo adulto de 70 Kg), podendo chegar à dose máxima de 40 mg/dia.

Entretanto, o presente trabalho permitiu ampliar o conhecimento atual sobre os efeitos da sinvastatina durante o período gestacional, e tem potencial para ser mais explorado em pesquisas futuras. Desta forma, sugere-se que estudos com amostras maiores e utilizando doses mais próximas daquelas utilizadas clinicamente poderão ajudar no aprofundamento do conhecimento sobre os efeitos das

sinvastatinas durante a gestação, aproveitando melhor o animal colhendo também a placenta, o sangue das ratas, avaliando a taxa de colesterol plasmático, o coração das mesmas entre outros.

7 CONCLUSÃO

Conclui-se que de acordo com a metodologia empregada foi possível observar que:

- a) Não houve diferença significativa no número de implantações tanto nas ratas controle quanto nas que receberam sinvastatina nas doses 10, 20 e 40 mg/kg;
- b) Houve entretanto maior número de reabsorções fetais no grupo que utilizou sinvastatina, na dose de 40 mg/kg, quando comparados ao grupo controle;
- c) Houve certa tendência à diminuição do comprimento dos fetos nos grupos tratados com sinvastatina, bem como do peso dos fetos terem sido relativamente menor nesses grupos tratados com sinvastatina, quando comparados ao grupo controle.

8 REFERÊNCIAS*

Andrade ED. *Terapêutica Medicamentosa em Odontologia*. 2. ed. São Paulo: Artes Médicas; 2006.

Andrade SE, Gurwitz JH, Davis, RL, Chan KA, Finkelstein JA, et al. Prescription drug use in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;191:398-407.

Anbinder AL, Quirino MRS, Rocha RF. Statins and bone tissue: a literature review. *Rev Odontol UNESP*. 2006;35(4):239-41.

Anbinder AL, Junqueira JC, Mancini MNG, Balducci I, Rocha RF, Carvalho YR. Influence of simvastatin on bone regeneration of tibial defects and blood cholesterol level in rats. *Braz Dent J*. 2006;17(4):267-73.

Bailey GP, Wise LD, Buschmann J, Hurtt M, Fischer JE. Pre and postnatal developmental toxicity study design for pharmaceuticals. *Birth Defec Res*. 2009 (part b)86:437-45.

Banhidy F, Lowry RB, Czeizel AE. Risk and benefit of drug during pregnancy. *Int J Med Sci*. 2005;2(3):100-6.

Barsante MM, Roffe E, Yokoro CM, Tafuri WL, Souza DG, Pinho V. Antiinflammatory and analgesic effects of atorvastatin in a rat model of adjuvant-induced arthritis. *Eur J Pharmacol*. 2005; 516(3):282-9.

*Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journal: Sample References [homepage na Internet]. Bethesda:US NLM:c2003 [disponibilidade em 2008 ago; citado em 25 ago.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Bèltran BC. Farmacocinética y farmacodinámica de antimicrobianos: Utilidad práctica. *Rev Chil Infectol.* 2004;21(1):39-44.

Brent RL. Utilization of animal studies to determine the effects and human risks of environmental toxicants (Drugs, Chemicals and Physical agents). *Pediatrics.* 2004;113:984-95.

Berard A, Azoulay L, Koren G, Blais L, Perreault S, Oraichi Driss. Isotretinoin, pregnancies, abortions and birth defects: a population-based perspective. *Br J Clin Pharmacol.* 2006:196-205.

Campo VL, Carvalho I. Estatinas Hipolipêmicas e Novas Tendências Terapêuticas *Quim Nova.* 2007;30(2):425-30.

Carlioni S, Mazzone E, Cimino M, De Simoni MG, Perego C, Scopa C. Simvastatin reduces caspase-3 activation and inflammatory markers induced by hypoxia-ischemia in the newborn rat. *Neurobiol Dis.* 2006; 21(1):119-26.

Carta M, Cimador M, Giuffrè M, Sergio M, Pace MR, Grazia E, et al. Unilateral multicystic dysplastic kidney in infants exposed to antiepileptic drugs during pregnancy. *Pediatric Nephrology.* 2007;22(7):1054-7.

Cummings AM. Toxicological mechanisms of implantation failure. *Fund Appl Toxicol.* 1990;15:571-9

Dimmeler S, Aicher A, Vasa M, Mildnerrihm C, Aldler K, Tieman M, et al. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via the PI3-Kinase/AKT pathway. *J Clin Invest.* 2001;108:365-6.

Edison RJ, Muenke M. Central nervous systems and limb anomalies and case reports of first-trimester statin exposure. *New Engl J Med.* 2004;350:1579-82.

Edison RJ, Muenke M. Mechanistic and epidemiologic considerations in the evaluation of adverse birth outcomes following gestational exposure to statins. *Am J Med Genetics.* Bethesda, Maryland. 2004;131a:287-98.

Fonseca MRCC, Fonseca E, Mendes GB. Prevalence of drug use during pregnancy: a pharmacoepidemiological approach. *Rev Saúde Publica*. 2002;36(2):205-12.

Fonseca FAH Farmacocinética das estatinas. *Arqui Bras Cardiol*. 2005;85(suppl 5): 9-14.

Fuchs FD, Wannmacher L, Ferreira MBC. *Farmacologia Clínica Fundamentos da Terapêutica Racional*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.

Goodman e Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica/ editor Laurence L. Brunton; editores associados John S. Lazo, Keith L. Parker; colaboradores Huda Akil...(et al.); tradução da 11.ed original, Carlos Henrique de Araújo Cosendey...(et al.) Porto Alegre:AMGH;2010.

Graham PB, Wise LD, Buschmann J, Hurtt M, Fischer JE. Pre and Postnatal Developmental Toxicity Study Design for Pharmaceuticals. *Birth Defects Res(part B)* 2009;86:437-445.

Goulart MG, Ramos WPB, Rocha RF. Calcium channel blocker verapamil stimulates ovulation and induces fetal reabsorption in rats. *Arch Vet Scienc*. 1999;4(1):31-4.

Henck JW, Craft WR, Black A, Colgin J, Anderson JA. Pre and portnatal toxicity of the HMG-CoA Redutase inhibitor atorvastatin in rats. *Toxic Sciences*. 1998;41;88-99.

Izar COM. Tratamento hipolipemiante em situações especiais - pós transplante e/ou terapia imunossupressora. *Arqui Bras Cardiol*. 2005;85 (suppl 5):50-5.

Kato H, Morishige WK, Rotchild I. A quantitative et al relationship between the experimentally determined number of conceptuses and corpus luteus activity in pregnant rats. *Endocrinol*. 1979;105:846-50.

Kenis I, Tartakover-Matalon S, Cherepnin N, Drucker L, Fishman A, Pomeranz M. Simvastatin has deleterious effects on human first trimester placental explants. *Hum Reprod.* 2005;20(10):2866-72.

Kinder AJ, Edwards J, Samanta A, Nichol F. Methotrexate in pregnancy: reply. *Rheumatology.* 2005;44(5):698.

Kureishi Y, Luo Z, Shiojima I, Bialik A, Fulton D, Lefer DJ, et al. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase AKT and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. *Nat Med.* 2000;6(9):965-6.

Leite ICG, Paumgarten FJR, Koifman S. Fendas orofaciais no recém-nascido e o uso de medicamentos e condições de saúde materna: estudo caso-controle na cidade do Rio de Janeiro. *Rev Bras Saúde Materno Infantil.* 2005;5(1):35-43.

Liao JK. Effects of Statins on 3-methyl coenzyme A reductase Inhibition Beyond Low-density Lipoprotein cholesterol. *Am J Cardiol* 2005;96(suppl):24F-33F

Liao JK, Laufs U. Pleiotropic effects of statins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2005;45:89-118.

Machado ALS, Brandão AAH, Silva CMOM, Rocha RF. Influence of tetracycline in the hepatic and renal development of rat's offspring Braz. *Arch Biol Technol.* 2003;46(1):47-51.

Mc Taggart F, Buckett L, Davidson R, Holdgate G, McCormick A, Schneck D, et al. Preclinical and clinical pharmacology of rosuvastatin, a new 3-hydroxy-3-methylglutaril Coenzyme A reductase inhibitor. *Am J Cardiol.* 2001;87:28B-32B.

Maeda T, Matsunuma A, Kawane T, Horiuchi N. Simvastatin promotes osteoblast differentiation and mineralization in MC3T3-E1 cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;280:874-7.

Magalhães MEC. Mecanismos de rabdomiólise com as estatinas. *Arq Bras Cardiol.* 2005;85(5):42-4.

Manson JM, Freyssinges C, Ducrocq MB, Stephenson WP. Postmarketing surveillance of lovastatin and Simvastatin exposure during pregnancy. *Reprod Toxicol.* 1996;10(6):439-46.

Martins E, Silva J, Saldanha C. Dieta, aterosclerose e complicações aterotrombóticas. *Rev Port Cardiol.* 2007;26(3):277-94.

Marzolini C, Paus E, Buclin T, Kim RB. Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance. *Clin Pharmacol. Ther.* 2004;75:13-33.

Mendes AMD, Figueiredo CP. Drug use during pregnancy: dermatological approach. *Ann Bras Dermatol.* 2000;75(1):87-92.

Mujagic H, Chabner BA, Mujagic Z. mechanisms of action and potential therapeutic uses of Thalidomide. *CMJ.* 2002;43(4):274-85.

Ofori B, Rey E, Bérard A. Risk of congenital anomalies in pregnant users of statin drugs. *Br J Clin Pharmacol.* 2007;64(4):496-509.

Perlman SE, Rudy SJ, Pinto C, Townsend-akpan C. Caring for women with childbearing potential taking teratogenic dermatologic drugs. Guidelines for practice. *J Reprod Med.* 2001 Feb;46(2suppl): 153-61.

Pettersen EE, Mitchell AA, Carey JC, Werler MM, Rasmussen SA. Maternal exposure to statins and risk for birth defects: a case series approach. *Am J Med Genet Part A.* 2008;146A:2701-5.

Pollack PS, Shields KE, Burnett D, Osborne MJ, Cunningham ML, Stepanavage ME. Pregnancy outcomes after maternal exposure to simvastatin and lovastatin. *Birth Defects Research Part A: Clin Molec Teratol.* 2005;73:888-96.

Rombaldi AR, Galvão ALC, Grezzana GB. Anticoagulantes antitrombóticos e hipolipemiantes no ciclo gravídico puerperal. *Rev Soc Cardiol.* 2005;14(5):1-4.

Rosa RAC, Cabrera MA, Peralta CC, Bernabé PFE. Vitamin supplementation effects on odontogenesis and tooth eruption: macroscopic and microscopic study in rats. *Rev FOL.* 2002;14(2):47-52.

Rosendo AB, Dal-pizzol F, Fiegenbaum M. Farmacogenética e efeito antiinflamatório dos inibidores da HMG-CoA redutase. *Arq Brás Endocrinol Metab.* 2007;51(4):520-5.

Santis MD, Straface G, Cavaliere Af, Nobili E, Caruso, A. The need for restricted prescription of retinoic acid derivative isotretinoin to prevent retinoid teratogenicity. *Prev Med.* 2007;45(2):243-4.

Sato T, Morita J, Murota S. Involvement of cholesterol in osteoclast-like cell formation via cellular fusion. *Bone.* 1998;23:135-40.

Sihany Filho AM. Drogas na gravidez. Influência sobre o concepto. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.

Silva JRO, Rocha RF. Efeitos do cloridrato de tetraciclina em fetos de ratas tratadas com o antibiótico (*Rattus Norvegicus*, raça Wistar, var. Albinus, Rodentia). *Rev Odonto UNESP.* 1995;24(1):109-15.

Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FAH, Bertolani MC, Afiune Neto A, Souza AD. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol.* 2007;88(suppl1):2-19.

Taguchi N, Rubin ET, Hosokawa A, Choi J, Ying AY, Moretti ME, et al. Prenatal exposure to HMG-CoA redutase inhibitors: effects on fetal and neonatal outcomes. *Reprod Toxicol.* 2008;26(2):175-7.

Ten Cate AR. Histologia bucal Desenvolvimento do dente e seus tecidos de suporte. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.

Tracy TS, Venkataramanan R, Glover DD, Caritis ST. Temporal changes and drug metabolism (CYP1A2, CYP2D6 and CYP3A activity) drug pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 2005;192:633-9.

Vaughan CJ, Gotto Junior AM, Basson CT. The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. J Am Coll Cardiol. 2000;35(1):1-10.

Viegas JR, Bolzani C, Silva V, Barreiro EJ. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. Quim Nova. 2006;29(2):326-37.

Vilela-Goulart MG, Ramos WPB, Rocha RF, Ranali J. Calcium Channel Blocker Verapamil Stimulates Ovulation and Induces Fetal Reabsorption in Rats. Arch Vet Scienc. 1999a;4(1):31-4.

Vilela-Goulart MG, Ramos WPB, Rocha RF, Salgado MAC, Ranali J. Effects of Calcium Channel Blocker Verapamil on Bone and Dental Germ in Rats. Arch Vet Scienc. 1999b;4(1):35-40.

Young V. Teratogenicity and drugs in Breast Milk in Applied Therapeutics. The Clinical use of drugs. 7. ed. Philadelphia: Lippincott Williams; 2000.

unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
FACULDADE DE ODONTOLOGIAAv. Eng. Francisco José Longo, 777 - Jd. São Dimas
CEP 12201-970 - F. (12) 3947-9028
Fax (12) 3947-9010 / yamin@fojoc.unesp.br
CERTIFICADO
Comitê de Ética em Pesquisa
Envolvendo Animais

CERTIFICAMOS, que o protocolo nº 5/2011-PA/CEP, sobre "Efeito da sinvastatina na prenhez de ratas", sob a responsabilidade de MARIA JOSÉ DOMINGUES DE CASTRO, tendo como orientador o Prof. Dr. LEONARDO MARCHINI, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Conselho Nacional de Experimentação Animal - CONCEA e Lei Arouca nº 11.794 de 08/10/2008 e foi aprovado por este Comitê de em Pesquisa.

São José dos Campos, 14 de abril de 2011.

Profa. Titular YASMIN RODARTE CARVALHO
Coordenadora

