

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

TATIANA SOLANO VITÓRIO

**Efeito da combinação de sinvastatina com paclitaxel  
veiculado por nanoemulsão lipídica na aterosclerose  
induzida em coelhos**

São Paulo  
2013

TATIANA SOLANO VITÓRIO

**Efeito da combinação de sinvastatina com paclitaxel  
veiculado por nanoemulsão lipídica na aterosclerose  
induzida em coelhos**

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

Área de Concentração: Análises Clínicas

Orientador: Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão

São Paulo  
2013

**Ficha Catalográfica**

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e  
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Vitório, Tatiana Solano  
V845e Efeito da combinação de sinvastatina com paclitaxel veiculado  
por nanoemulsão lipídica na aterosclerose induzida em coelhos /  
Tatiana Solano Vitório. -- São Paulo, 2013.  
101p.

Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises  
Clínicas Clínicas e Toxicológicas.

Orientador: Maranhão, Raul Cavalcante

1. Aterosclerose 2. Agente antineoplásico : quimioterapia  
I. T. III. Maranhão, Raul Cavalcante, orientador.

616.136 CDD

## RESUMO

VITÓRIO, T. S. **Efeito da combinação de sinvastatina com paclitaxel veiculado por nanoemulsão lipídica na aterosclerose induzida em coelhos.** 2013. 101 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Em estudos prévios, mostramos que uma nanoemulsão lipídica (LDE) é reconhecida e se liga aos receptores de LDL após sua injeção na corrente sanguínea. Como tais receptores estão superexpressos em células com altas taxas de proliferação, como ocorre no câncer e na aterosclerose, a LDE pode ser utilizada como veículo para direcionar fármacos a essas células, diminuindo sua toxicidade e aumentando sua eficácia terapêutica. Anteriormente, reportamos que o tratamento com um derivado do paclitaxel, o oleato de paclitaxel, associado à LDE (PTX-LDE), reduziu em 60% a área lesionada de aortas de coelhos submetidos à dieta aterogênica, comparados a animais não tratados. No presente trabalho, avaliamos o efeito da associação de sinvastatina, medicamento hipolipemiante, e PTX-LDE, sobre a aterosclerose induzida por dieta em coelhos. Trinta e seis coelhos machos da raça Nova Zelândia foram submetidos à dieta enriquecida com 1% de colesterol durante oito semanas. A partir da quinta semana, os animais foram divididos em quatro grupos, de acordo com o tratamento: controle (solução salina EV), sinvastatina (2mg/kg/dia, VO), paclitaxel (PTX-LDE, 4mg/Kg/semana, EV), ou combinação de sinvastatina (2mg/Kg/dia, VO) com paclitaxel (PTX-LDE, 4mg/Kg/semana, EV). Após oito semanas, os animais foram sacrificados para análise das aortas. Em comparação aos controles, a área lesionada das aortas foi em torno de 60% menor, tanto no grupo paclitaxel, quanto no grupo da combinação, e em torno de 40% menor no grupo sinvastatina ( $p < 0,05$ ). A razão entre as camadas íntima/média foi menor nos grupos tratados, em relação ao grupo controle (controles,  $0,35 \pm 0,22$ , sinvastatina,  $0,10 \pm 0,07$ , paclitaxel,  $0,06 \pm 0,16$  e combinação,  $0,09 \pm 0,05$ ,  $p < 0,0001$ ). Os grupos combinação e sinvastatina apresentaram um aumento da porcentagem de colágeno nas lesões (combinação, 20% e sinvastatina, 22%), em comparação aos controles (11%) e ao grupo paclitaxel (12%), ( $p < 0,0001$ ). Houve uma diminuição da porcentagem de macrófagos na lesão em todos os grupos tratados (paclitaxel, 11%, sinvastatina, 8% e combinação, 5%), comparados ao grupo controle (30%), ( $p < 0,0001$ ). O grupo paclitaxel apresentou menor porcentagem de células musculares lisas na lesão (20%) em relação aos controles (33%), ( $p < 0,0001$ ), já na combinação, houve aumento dessa porcentagem (44%), ( $p < 0,0001$ ). A combinação com sinvastatina não aumentou a eficácia do tratamento com PTX-LDE na redução da área de lesões ateroscleróticas, porém, os efeitos adicionais sobre o perfil lipídico e na composição das lesões, observadas com o uso da combinação, são achados importantes, que sugerem benefícios no sentido de aumentar a estabilidade das placas ateroscleróticas, o que nos abre um caminho de pesquisa muito promissor.

Palavras-chave: Aterosclerose, paclitaxel, sinvastatina, veiculação farmacológica, nanoemulsão lipídica.

## ABSTRACT

VITÓRIO, T. S. **Effect of a combination of simvastatin and paclitaxel carried by a lipid nanoemulsion on induced atherosclerosis in rabbits.** 2013. 101 p. Thesis (Ph.D.) - Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, 2013.

In previous studies we have shown that a lipid nanoemulsion (LDE) is recognized and binds to LDL receptors after injection into the bloodstream. As those receptors are upregulated in cells with higher proliferation rates, as occurs in cancer and atherosclerosis, LDE can be used as a vehicle to direct drugs to those cells, diminishing toxicity and increasing therapeutic efficacy. Previously, we reported that treatment with antiproliferative agent paclitaxel derivative, paclitaxel oleate, associated with LDE (PTX-LDE), reduced by 60% the injured area of the aorta of rabbits subjected to atherogenic diet compared to untreated animals. In the current study we aim to test the effect of a combination of lipid-lowering drug simvastatin with PTX-LDE on diet-induced atherosclerosis in rabbits. Thirty-six male New Zealand rabbits were fed a 1% cholesterol diet for 8 weeks. Starting from week 5, animals were divided into four groups, according to the following treatments: controls (I.V. saline solution injections), simvastatin P.O. (2mg/kg/day), paclitaxel (PTX-LDE I.V. injections, 4mg/Kg/week), or paclitaxel-simvastatin combination (PTX-LDE I.V., 4mg/Kg/week + simvastatin P.O., 2mg/Kg/day). After 8 weeks, the animals were sacrificed for aorta evaluation. Compared to controls, the injured area was reduced by 60% in both paclitaxel and combination groups, and by 40% in simvastatin group ( $p < 0,05$ ). The intima/media ratio was reduced in treated groups, compared to control group (controls,  $0,35 \pm 0,22$ , simvastatin,  $0,10 \pm 0,07$ , paclitaxel,  $0,06 \pm 0,16$  and combination,  $0,09 \pm 0,05$ ,  $p < 0,0001$ ). Simvastatin and combination groups showed increased collagen content within the lesions (simvastatin, 22% and combination 20%), compared to controls (11%) and to paclitaxel group (12%), ( $p < 0,0001$ ). Macrophage content within the lesions was reduced in all treated groups (paclitaxel, 11%, simvastatin, 8% e combination, 5%), compared to controls (30%), ( $p < 0,0001$ ). The percentage of smooth muscle cells in the lesions was diminished in paclitaxel group (20%) compared to control group (33%), while the combination group showed increased percentage (44%) of smooth muscle cells in the lesions ( $p < 0,0001$ ). The combination of simvastatin did not improve the efficacy of the treatment with PTX-LDE in reducing the area of atherosclerotic lesions, but the additional effects on lipid profile and lesion composition observed with the use of the combination are important findings that suggest benefits in order to enhance the stability of atherosclerotic plaques, which may lead us to a very promising research path.

Keywords: Atherosclerosis, paclitaxel, simvastatin, drug-targeting, lipid nanoemulsion.

# **1 INTRODUÇÃO**



## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Aterosclerose

A aterosclerose é uma doença progressiva caracterizada pelo espessamento e acúmulo de lipídeos, células inflamatórias e elementos fibrosos na camada íntima das artérias, principalmente as de calibre médio e grande, produzindo placas ateromatosas (YLÄ-HERTTUALA *et al.*, 1996; LUSIS; MAR; PAJUKANTA, 2004). Estas, também denominadas fibrogordurosas, são formadas de uma placa focal elevada no interior da íntima com centro lipídico, principalmente colesterol e ésteres de colesterol, que se projeta na luz das artérias (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000; ZIPES, 2005). Múltiplos processos estão envolvidos na fisiopatologia da aterosclerose, incluindo disfunção endotelial, inflamação, proliferação vascular e alterações da matriz (DZAU; BRAUN-DULLAEUS; SEDDING, 2002).

Diversos fatores, como hipertensão arterial, *diabetes mellitus*, tabagismo e hipercolesterolemia podem alterar a homeostase do endotélio vascular, prejudicando suas funções na vasoconstrição, na coagulação e aumentando a permeabilidade vascular (EATON, 2005). Tal comprometimento funcional do endotélio facilita a penetração no espaço subendotelial de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) pequenas e densas e remanescentes de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) (HOMMA, 2004).

Quando elevadas na circulação, estas lipoproteínas se ligam a proteoglicanos, aumentam seu tempo de retenção na íntima arterial e podem sofrer oxidação por

radicais livres produzidos por células endoteliais adjacentes, células musculares lisas ou macrófagos isolados (ZIPES, 2005; CHOY, 2004). A retenção e modificação destas lipoproteínas são eventos iniciais do processo aterogênico que desencadeiam a resposta inflamatória na parede arterial (WILLIAMS; TABAS, 1995; STAELS, 2002). O processo inflamatório em si também prejudica a função de barreira do endotélio, aumentando a permeabilidade vascular (VAN NIEUW AMERONGEN; VAN HINSBERGH, 2003).

As partículas de LDL oxidadas (oxLDL), altamente aterogênicas, estimulam as células endoteliais a expressar moléculas de adesão, como *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1), *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) e selectina de células endoteliais (E-selectina) e a secretar citocinas, como as interleucinas 1 e 6 e (IL-1 e IL-6, respectivamente), fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1), desencadeando a migração de monócitos aos sítios de lesão e sua transformação em macrófagos (CHOY, 2004; BERLINER, 1990; LIBBY; THEROUX, 2005). Os macrófagos ativados fagocitam as oxLDL por meio dos receptores de varredura (*scavenger*) expressos em sua superfície, formando as células espumosas (YLÄ-HERTTUALA *et al.*, 1989; WU; MOULTON; GLASS, 1992; GLASS; WITZTUM, 2001; STOCKER; KEANEY JUNIOR, 2004).

Como consequência da resposta inflamatória, as células musculares lisas migram da camada média e se acumulam na íntima, onde proliferam. Estas células também são capazes de acumular lipídeos, principalmente ésteres de colesterol, provavelmente pela presença de receptores de oxLDL (CD36 e *lectinlike Ox-LDL receptor 1*, LOX-1) (KATAOKA *et al.*, 1999; RICCIARELLI; ZINGG; AZZI, 2000),

ocorrendo assim a formação de mais células espumosas (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000).

Em conjunto com células endoteliais e monócitos, as células musculares lisas, em resposta a diversos sinais oxidativos, hemodinâmicos, inflamatórios e autoimunes, secretam metaloproteinases, que degradam a matriz extracelular e modulam diversas funções das células vasculares como ativação, proliferação, migração e morte celular (LIBBY; THEROUX, 2005).

Enquanto os fatores que estimulem a disfunção endotelial persistirem, haverá adesão de monócitos, migração subendotelial de células musculares lisas e acúmulo de lipídeos no interior dos macrófagos e das células musculares lisas, produzindo finalmente agregados de células espumosas na íntima, que aparecem macroscopicamente como estrias gordurosas (GLASS; WITZTUM, 2001; STOCKEY; KEANEY JUNIOR, 2004).

A proliferação das células musculares lisas e a deposição de matriz extracelular são processos que quando crônicos, transformam a estria gordurosa em ateroma fibrogorduroso, pela deposição adicional de colágeno e proteoglicanos, além da formação da cápsula fibrosa pelo tecido conjuntivo proeminente na face da íntima.

A proliferação celular contínua sobre os ateromas produz então as placas fibrosas (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000; PLUTZKY, 2003), que quando comprometidas por trombose, hemorragia e/ou calcificação, desencadeiam eventos clínicos agudos, como isquemia cardíaca e infarto do miocárdio, decorrentes da oclusão arterial.

A proliferação vascular contribui com a fisiopatologia da aterosclerose e está relacionada a outros processos celulares, como inflamação, apoptose e alterações da

matriz (DZAU; BRAUN-DULLAEUS; SEDDING, 2002). Alguns procedimentos utilizados para tratar a redução do lúmen vascular, como a angioplastia com balão e o implante de *stents*, podem desencadear a proliferação de células musculares lisas no local por lesão mecânica, o que inicia uma cascata de eventos, levando à reestenose (KADAR; GLASZ, 2001).

Desse modo, o melhor conhecimento do mecanismo das doenças vasculares tem possibilitado o desenvolvimento de novas estratégias de tratamento que podem inibir ou bloquear os processos patológicos da proliferação vascular. O interesse na terapia antiproliferativa levou a uma busca pela inibição de fases específicas do ciclo celular, que pode ser alcançada por meio de agentes farmacológicos que bloqueiam a proliferação celular (DZAU; BRAUN-DULLAEUS; SEDDING, 2002).

## **1.2 Estatinas**

As estatinas constituem uma notável classe de medicamentos redutores de colesterol e têm sido associadas com uma expressiva diminuição da morbidade e mortalidade cardiovascular para pacientes em prevenção primária ou secundária da doença coronariana (BALLANTYNE, 1998).

As estatinas são agentes hipolipemiantes que exercem os seus efeitos por meio da inibição da 3-hidroxi-3-metil-glutaril-Coenzima A redutase, (HMG-CoA redutase), enzima fundamental na síntese do colesterol, levando a uma redução do colesterol tecidual e um conseqüente aumento na expressão dos receptores de LDL (LDL-r) (VAUGHAN; GOTTO; BASSON, 2000). O mecanismo de ação das estatinas para obtenção da redução do colesterol se deve a inibição da HMG-CoA redutase por meio

da afinidade destes fármacos com o sítio ativo da enzima. Esta inibição é reversível e competitiva com o substrato HMG-CoA (McTAGGART, 2003).

Existem consideráveis diferenças entre as estatinas, no que tange às propriedades farmacocinéticas, bem como ao coeficiente de hidrofiliabilidade, via hepática de metabolização (especialmente, do citocromo P450 e isoenzimas), meia-vida plasmática e eficácia na redução lipídica (FONSECA, 2005). As estatinas também podem diferir na capacidade de interação com outras drogas que utilizam o mesmo sítio de metabolização microsomal hepático (STAFFA; CHANG; GREEN, 2002). Porém, apesar das potenciais interações entre as estatinas e alguns fármacos de uso rotineiro na prática clínica, efeitos adversos são relativamente raros tanto em nível hepático como muscular. (FONSECA, 2005).

Funcionalmente, as estatinas podem ser classificadas pela sua hidrofiliabilidade ou lipofiliabilidade, o que as distingue em grupos capazes de reduzir eventos cardíacos independentemente de suas atividades hipolipemiantes e antiateroscleróticas (ICHIHARA; SATOH, 2002).

Existem diferenças na habilidade de células extra-hepáticas de reconhecer e transportar seletivamente estatinas distintas. Estatinas hidrofílicas, como a pravastatina, não penetram nas bicamadas lipídicas, entrando nos hepatócitos via transportadores aniônicos (ISTVAN *et al.*, 2001; PARKER, 2003). Em contraste, estatinas lipofílicas como a lovastatina, sinvastatina e fluvastatina atravessam diretamente as membranas celulares e apresentam efeitos pleiotrópicos em tecidos extra-hepáticos, além de seus efeitos de redução de colesterol (ICHIHARA *et al.*, 2002), sendo portanto amplamente utilizadas por uma gama de tecidos e células por difusão passiva (SERAJUDDIN; RANADIVE; MAHONEY, 1991; HAMELIN; TURGEON, 1998).

Embora as estatinas sejam amplamente utilizadas na aterosclerose para a redução do colesterol, muitos desses efeitos pleiotrópicos têm sido relatados com o uso destas drogas. Do ponto de vista farmacodinâmico, as estatinas são bastante seletivas para sua atuação junto à enzima HMG-CoA redutase e vários dos efeitos pleiotrópicos destes fármacos parecem depender de uma menor ativação de algumas proteínas que interferem em várias e importantes vias de sinalização celular. Estas vias são relacionadas a genes que condicionam a síntese de citocinas inflamatórias, fatores de coagulação, ou a maior expressão de óxido nítrico (FONSECA, 2005).

Desta forma, as estatinas, ao inibirem à enzima HMG-CoA redutase, inibem também a síntese de mevalonato, um precursor importante de produtos como o geranylpirofosfato (GPP) e o farnesilpirofosfato (FPP), que atuam na regulação do ciclo celular e são responsáveis pela isoprenilação das proteínas intracelulares Ras e Rho. A redução de mevalonato, portanto, determina menor ativação destas proteínas, promovendo efeitos anti-inflamatórios, melhor balanço da hemostasia e recuperação da vasorreatividade dependente do endotélio (McFARLANE, 2002). As proteínas intracelulares Ras e Rho também regulam a tradução de diversos receptores de membrana responsáveis pela transcrição de genes envolvidos na proliferação celular, diferenciação e apoptose.

Estudos anteriores mostraram que várias das estatinas lipofílicas podem induzir a apoptose em células musculares lisas (GUIJARRO *et al.*, 1998) ou ativação de células T através do receptor de células T (GOLDMAN *et al.*, 1996). Em baixas concentrações, apenas as estatinas lipofílicas demonstraram ter efeito sobre apoptose e viabilidade celular, sendo que o efeito obtido com o uso de sinvastatina foi o mais potente de todos.

Assim, em pontos de estenose com processo de inflamação local, a diminuição no número de células musculares lisas pode ter efeito benéfico (KNAPP *et al.*, 2000).

Em estudos anteriores de tratamento da aterosclerose induzida em coelhos, o uso de estatina resultou em lesões ateroscleróticas menos graves e inibiu a infiltração de macrófagos, reduzindo o componente inflamatório na neointima. O estudo também reportou que o uso de estatina diminuiu a expressão de MCP-1 e a atividade do fator nuclear de transcrição-*kappa* B (NF- $\kappa$ B), sugerindo o efeito direto da droga sobre a placa ateromatosa (BUSTOS, 1998).

As estatinas também demonstraram ter um efeito na diminuição de oxLDL circulante (INAMI *et al.*, 2004; INOUE *et al.*, 2002; VAN TITS *et al.*, 2004), possivelmente pelo aumento da atividade da paraoxonase (TOMÁS *et al.*, 2000). A oxLDL, fator iniciante da aterogênese, possui numerosos efeitos biológicos desfavoráveis, como a indução da disfunção endotelial, ativação da adesão endotelial, diferenciação e adesão de monócitos e a proliferação de células musculares lisas (KUGIYAMA *et al.*, 1990; FROSTEGARD *et al.*, 1991; FROSTEGARD *et al.*, 1990; KOBAYASHI *et al.*, 2000), e há diversas evidências de que o aumento de peroxidação de lípidos e do stress oxidativo estão relacionados com a hipercolesterolemia (OHARA *et al.*, 1995; REILLY *et al.*, 1998).

As ações imunomodulatórias na inflamação, a mobilização de células tronco, a diminuição da resistência à insulina, entre outras ações, têm ampliado consideravelmente as prescrições para estes fármacos, como no caso da insuficiência cardíaca (LIAO, 2004), nos transplantes (MEHRA; RAVAL, 2004) ou na artrite reumatóide (LEUNG *et al.*, 2003).

Além disso, cresce o conceito de que praticamente todos os clássicos fatores de risco podem ter seu impacto na doença aterosclerótica atenuado pelo uso das estatinas, como tem sido mostrado em estudos de hipertensão arterial (SEVER *et al.*, 2003) ou diabetes (COLHOUN *et al.*, 2004), além do uso de estatinas em outras condições, como em indivíduos portadores do vírus HIV em uso de antirretrovirais (DEL REAL *et al.*, 2004) ou em indivíduos com osteoporose (McFARLANE *et al.*, 2003).

Entretanto, a questão que permaneceu após todos estes estudos é a de que apesar dos benefícios, um considerável resíduo de morbidade e mortalidade ainda foi observado. A necessidade de metas mais agressivas de redução do colesterol de LDL (LDL-C) determina a utilização de fármacos mais efetivos (FONSECA, 2005).

### **1.3 Paclitaxel**

Paclitaxel (PTX) é o fármaco precursor de uma classe de agentes estabilizantes de microtúbulos, os taxanos. (ROWINSKY *et al.*, 1990). No começo dos anos 70, o PTX foi isolado por Wani e colaboradores a partir do extrato da casca do teixo do Pacífico, chamado *Taxus brevifolia* (WANI *et al.*, 1971). O PTX age nos microtúbulos, e diferentemente de outros agentes que estabilizam microtúbulos, tais como os alcaloides da vinca, o PTX promove a polimerização da tubulina (SCHIFF; FANT; HORWITZ, 1979). Dessa forma, os microtúbulos formados pela indução do PTX são estáveis e disfuncionais, o que leva a um desequilíbrio entre a formação de microtúbulos e sua dissociação em tubulina (PARNES; HORWITZ, 1981).

Os microtúbulos têm como principal função promover a divisão celular durante a mitose, e sua disfunção compromete as fases G2 (intervalo pré-mitótico) e M (mitose),



bloqueando a divisão e, conseqüentemente, a proliferação celular (HORWITZ, 1992; HORWITZ *et al.*, 1993). Além disso, os microtúbulos também estão envolvidos em outras funções essenciais à célula, como funções de interface, excreção, mobilidade e transmissão de sinais no transporte intracelular de organelas (PATTERSON, 2006).

Por sua atividade citotóxica, o PTX tem sido utilizado no tratamento de câncer de ovário e mama (PAZDUR *et al.*, 1993; DZAU; BRAUN-DULLAEUS; SEDDING, 2002). O mecanismo preciso pelo qual o PTX é transportado para o interior das células é desconhecido. Supõe-se que devido à sua natureza hidrofóbica, o PTX possa entrar na célula por difusão passiva (MANFREDI *et al.*, 1984; RODRIGUES, 2005).

Um dos problemas iniciais encontrados no uso do PTX estava relacionado com sua fraca solubilidade em água, o que dificultava o desenvolvimento de uma formulação para seu uso clínico (HORWITZ, 1992). O problema de solubilidade foi resolvido, com a formulação do PTX em cremophor EL. Porém, a utilização do cremophor EL como veículo trouxeram efeitos secundários indesejados, como reações de hipersensibilidade (KINGSTON, 2001).

Brahn foi o primeiro a reportar, em 1994, que o PTX não só preveniu a indução, mas causou a regressão de artrite pré-existente em um modelo de artrite induzida em ratos (BRAHN; TANG; BANQUERIGO, 1994). O PTX tem sido avaliado em outros diversos modelos animais de patologias. O agente inibiu a progressão de doença policística renal congênita em camundongos, teve efeito protetor em modelos de pancreatite em ratos e inibiu o acúmulo de células musculares lisas após angioplastia em ratos.

Esta última observação foi adaptada e hoje, o PTX tem sido utilizado para recobrir *stents* utilizados em angioplastia para evitar a reestenose (FITZPATRICK;

WHEELER, 2003). Essa técnica permite um contato imediato do fármaco com a parede do vaso, favorecendo sua rápida acumulação no tecido arterial (HELDMAN *et al.*, 2001). Entretanto, os *stents* eluídos com fármacos, apesar de prevenir a reestenose, não reduzem as taxas de mortalidade dos pacientes (STONE *et al.*, 2005).

A ação local do PTX poderia ser substituída por uma ação em toda a árvore coronária. Contudo, para se alcançar as concentrações necessárias para a eficácia terapêutica no tratamento sistêmico, a dose deve ser maior que a dose para ação local, o que leva ao aumento da toxicidade (ONETTO *et al.*, 1993). A neutropenia é a principal manifestação da toxicidade do PTX, além das reações de hipersensibilidade associadas ao cremophor EL (WEISS *et al.*, 1990; ROWINSKY *et al.*, 1993), como por exemplo, toxicidade gastrointestinal, que leva à perda de peso (PAZDUR *et al.*, 1993).

O veículo também tem influência na função do endotélio e músculos, causando vasodilatação, dificuldade respiratória, letargia e hipotensão (WEISS *et al.*, 1990; ROWINSKY *et al.*, 1990; PAZDUR *et al.*, 1993).

#### **1.4 Nanopartículas lipídicas artificiais como transportadoras de fármacos**

A LDL é o principal carreador de colesterol no plasma. A apolipoproteína (apo) B-100 constitui a parte proteica da LDL e é o componente que liga as partículas da LDL a seus receptores específicos, os LDL-r, situados na superfície da membrana plasmática celular (BROWN; GOLDSTEIN, 1986). O LDL-r está sujeito à regulação retroativa (*feedback*) e sua regulação é o principal fator para o controle da concentração plasmática de LDL (BROWN; GOLDSTEIN, 1990).

A expressão dos LDL-r se apresenta muito aumentada em células com altas taxas de mitose, como ocorre em processos neoplásicos. Ho e colaboradores observaram um aumento na atividade dos LDL-r em células leucêmicas do sangue periférico de pacientes com leucemia mielocítica aguda, em relação às células mononucleares de indivíduos sadios (HO *et al.*, 1978).

Em outro estudo, Gal e colaboradores demonstraram que células de linhagens neoplásicas (carcinoma epidermoidal vaginal, carcinoma epidermoidal cervical e adenocarcinoma endometrial) expressam cerca de 15 a 30 vezes mais LDL-r do que as células de linhagens normais (células fibroblásticas cervicais e células epiteliais de glândula endometrial proliferativa) (GAL *et al.*, 1981).

A superexpressão de LDL-r é decorrente da aceleração da mitose nas células neoplásicas, o que demanda lípidos para atender à síntese de novas membranas, exigida pela duplicação celular. Esse fenômeno propiciou a busca por uma estratégia de direcionamento específico de fármacos a tecidos acometidos, concentrando os fármacos no sítio de ação (*drug-targeting*) e diminuindo sua captação por órgãos e tecidos normais, por meio da interação da LDL com seus receptores (FIRESTONE, 1994).

Essa possibilidade está baseada no fato de que a LDL é capaz de transportar grandes quantidades de componentes lipofílicos que podem ter efeitos citotóxicos, sendo internalizada pelos LDL-r superexpressos. Consequentemente, há uma maior concentração do fármaco incorporado nas células alvo e uma diminuição da toxicidade celular não específica (MOSLEY *et al.*, 1981).

Porém, a utilização da LDL natural fica restrita às experiências laboratoriais, pois sua obtenção a partir do plasma humano e os procedimentos de incorporação dos

fármacos e armazenamento dos complexos inviabilizam sua utilização na prática clínica (RENSEN *et al.*, 1997). Além disso, por ser um hemoderivado, pode provocar respostas imunológicas e contaminação por vírus da hepatite ou do HIV. Portanto, apesar dos progressos, em 2013 ainda são escassos os produtos em uso comercial com propriedades de *drug-targeting*.

Outros transportadores têm sido desenvolvidos e testados, tais como transportadores poliméricos, anticorpos, emulsões, liposomas e liposomas carregados positivamente (MARANHÃO; TERCYAK; REDGRAVE, 1986; LUNDBERG, 1994; KAN *et al.*, 1999; JURCIC; SCHEINBERG; HOUGHTON, 1996; TYAGI *et al.*, 1999; SENGUPTA *et al.*, 2000; BELLOT; POUNA; ROBERT, 2001).

Em artigos publicados por nosso grupo a partir de 1992, mostramos que, dependendo da estrutura e composição das partículas, nanoemulsões lipídicas produzidas artificialmente podem concentrar-se nas células neoplásicas e com isso carrear quimioterápicos dirigidos àquelas células. Tratou-se de descoberta pioneira na área de Nanotecnologia aplicada à Medicina, já que foi a primeira vez que se demonstrou o direcionamento de partículas sólidas artificiais, não liposomais, para o sítio de ação (MARANHÃO *et al.*, 1992).

As nanoemulsões são produzidas sem proteína, porém a estrutura e a composição lipídica das nanopartículas, de uma maneira geral, são parecidas com as da LDL. Isto permite que, em contato com a corrente circulatória, adquiram a apo E presente nas lipoproteínas plasmáticas. A apo E é reconhecida pelos LDL-r, e isto permite que a nanoemulsão seja captada pelas células pelo mesmo processo de captação da LDL, a endocitose mediada pelo LDL-r (MARANHÃO *et al.*, 1993; 1997). Desta maneira, referimo-nos às nanoemulsões como “LDE”.

Estudos realizados em pacientes com câncer de ovário e mama mostraram que a LDE se concentra nos tecidos neoplásicos. As células de câncer de ovário, por exemplo, tiveram uma captação em média 10 vezes maior da LDE em relação ao tecido normal enquanto que, em carcinoma de mama, a captação tumoral foi, em média, 4,5 vezes maior em relação ao tecido mamário normal (ADES *et al.*, 2001; GRAZIANI *et al.*, 2002). Estes experimentos comprovaram a capacidade do veículo de direcionamento para o tecido proliferativo.

De fato, ao se associarem fármacos de ação terapêutica à LDE, após injeção na corrente circulatória, os fármacos são captados junto com as nanopartículas e concentram-se assim no tecido-alvo, os tumores malignos. Em cultura celular (RODRIGUES *et al.*, 2002; VALDUGA *et al.*, 2003), e em estudos de farmacocinética em animais (RODRIGUES *et al.*, 2005) e em pacientes (MARANHÃO *et al.*, 2002), mostrou-se que as diversas preparações LDE-quimioterápicos eram estáveis, sendo que os fármacos transportados pela LDE não se dissociam dela na circulação, permanecendo nas nanopartículas até sua entrada nas células, o que é fundamental para obtenção do efeito *drug-targeting*.

Até o momento, desenvolvemos cinco formulações de quimioterápicos associados à LDE: carmustina (MARANHÃO *et al.*, 2002) e derivados de paclitaxel (RODRIGUES *et al.*, 2002; 2005), etoposídeo (VALDUGA *et al.*, 2003), metotrexato (MOURA *et al.*, 2011) e daunorrubicina (TEIXEIRA *et al.*, 2008). A necessidade de derivatizar os quatro últimos quimioterápicos para associá-los à LDE visou aumentar sua lipofilicidade e, assim, o rendimento da associação, e obter associações estáveis. No caso, trata-se de adicionar um ácido graxo à estrutura molecular do fármaco. Quando o quimioterápico modificado, transportado na LDE penetra na célula, esterases

citoplasmáticas quebram a ligação com o ácido graxo e a molécula readquire sua ação farmacológica.

A experimentação *in vitro* mostrou, com base nos parâmetros clássicos de Farmacologia, como o cálculo das doses letais (DL50), que este processo de veiculação reduz drasticamente a toxicidade dos quimioterápicos (DORLHIAC-LLACER *et al.*, 2001; VALDUGA, 2003). Por exemplo, a DL50 do LDE-paclitaxel foi 10 vezes maior que a DL50 do paclitaxel comercial, o que confirma a enorme redução de toxicidade (RODRIGUES *et al.*, 2002). Na experimentação animal com modelos oncológicos mostrou-se também que a associação com a LDE aumenta a ação terapêutica dos fármacos, sendo capazes de inibir o crescimento tumoral em camundongo mais eficientemente que as preparações comerciais correspondentes (RODRIGUES *et al.*, 2005; LO PRETE *et al.*, 2006), além de aumentar o tempo de sobrevivência dos animais com implantação de tumor (LO PRETE *et al.*, 2006) e reduzir acentuadamente as metástases (KRETZER *et al.*, 2012).

### **1.5 Preparações LDE-quimioterápicos no tratamento da aterosclerose**

A LDE também tem sido utilizada como uma ferramenta no estudo na área de Cardiologia. Em um estudo em portadores de hipercolesterolemia, onde há diminuição da atividade dos receptores B/E, resultando na captação deficiente de LDL e seu acúmulo no plasma (RIDKER *et al.*, 2001), a LDE foi removida da circulação mais lentamente do que em indivíduos normolipidêmicos, confirmando o comportamento esperado (MARANHÃO *et al.*, 1997).

Quando injetada em pacientes com doença coronária submetidos à cirurgia de revascularização, foi verificado que quantidades consideráveis da LDE foram captadas pelo tecido arterial desprezado durante o procedimento (DAVID-COUTO *et al.*, 2007).

O fenômeno de superexpressão de LDL-r também ocorre em células envolvidas em processos proliferativos não-neoplásicos como o processo de aterogênese. Zhu e colaboradores observaram uma superexpressão de LDL-r na superfície celular de células de músculo liso vascular localizadas na íntima hiperplásica de lesões ateroscleróticas (ZHU *et al.*, 2002). De fato, em 2004, reportamos que a LDE também pode ser captada mais intensamente por tecidos não neoplásicos, mas em proliferação rápida, como acontece em pacientes com talassemia *minor* (NAOUM *et al.*, 2004).

A partir dos trabalhos de Ross (ROSS, 1999) que levaram à concepção fisiopatológica atual da doença (LIBBY *et al.*, 2010), a aterosclerose é basicamente um processo inflamatório-proliferativo crônico. Apesar do esforço no desenvolvimento de drogas anti-inflamatórias para uso em Cardiologia (CHARO; TAUB, 2011), o tratamento médico atual das doenças cardiovasculares é restrito ao controle dos fatores de risco, ou seja, a administração de estatinas, anticoagulantes, antiagregantes e anti-hipertensivos.

Como os medicamentos usados no tratamento contra o câncer são os mais potentes antiproliferativos e anti-inflamatórios no arsenal da Terapêutica, levantamos a hipótese do seu uso, veiculado na LDE, no tratamento da aterosclerose. Esta abertura tornou-se possível porque a associação com a LDE neutraliza a toxicidade dos quimioterápicos. Assim, a estratégia torna-se perfeitamente viável, com o novo grau de tolerabilidade dessas drogas proporcionado pelo sistema LDE.

Com base nestas informações, em 2008, injetamos a LDE radioativa em coelhos com aterosclerose induzida pela administração de dieta rica em colesterol e verificamos que as nanopartículas se concentravam nas lesões ateroscleróticas. Além disso, foi demonstrado que a LDE concentrou-se no arco aórtico dos coelhos que receberam a dieta enriquecida com colesterol (MARANHÃO *et al.*, 2008).

O tratamento com a preparação do derivado de paclitaxel, o oleato de paclitaxel, veiculado pela LDE (PTX-LDE), reduziu em cerca de 60% a área lesionada da aorta dos coelhos com aterosclerose induzida por dieta, em comparação aos coelhos controles não tratados (MARANHÃO *et al.*, 2008). Além do PTX-LDE, conseguimos bons resultados também com o uso de LDE-etoposídeo (TAVARES *et al.*, 2011) e LDE-metotrexato (BULGARELLI *et al.*, 2013). Além do efeito inibitório das drogas sobre fatores pró-inflamatórios, a invasão macrofágica da íntima e a proliferação das células musculares lisas também foram inibidas pelos tratamentos. Estes achados abriram uma nova frente de aplicações para a LDE (MARANHÃO *et al.*, 2008).



## **7 CONCLUSÃO**

## 7 CONCLUSÃO

- Pelo exposto até o momento, o tratamento com sinvastatina combinada ao PTX-LDE mostrou eficácia semelhante à observada no tratamento apenas com PTX-LDE na redução da área das lesões ateroscleróticas, sendo seu efeito maior do que o observado no grupo tratado apenas com sinvastatina;
- O tratamento combinado, porém, mostrou maior efeito na composição das lesões, em relação à presença de colágeno, macrófagos e células musculares lisas, em comparação aos grupos tratados apenas com PTX-LDE ou sinvastatina, modificando a conformação da lesão, com alterações sugestivas de um fenótipo de placa mais estável;
- Nenhum dos tratamentos levou a alterações no consumo de ração, peso corporal ou nos perfis hematológico e renal dos animais. As alterações observadas nos parâmetros de função hepática em todos os grupos sugerem toxicidade hepática pelo consumo de colesterol, e não toxicidade dos tratamentos. Já em relação ao perfil lipídico, houve efeito hipolipemiante dos tratamentos apenas nos grupos nos quais a sinvastatina foi administrada.

# **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADES, A.; CARVALHO, J. P.; GRAZIANI, S. R.; AMÂNCIO, R. F.; SOUEN, J. S.; PINOTTI, J. A.; MARANHÃO, R. C. Uptake of a cholesterol-rich emulsion by neoplastic ovarian tissues. **Gynecol. Oncol.** v. 82(1), p. 84-87, 2001.

AIKAWA, M.; SUGIYAMA, S.; HILL, C.C.; VOGLIC, S.J.; RABKIN, E.; FUKUMOTO, Y.; SCHOEN, F.J.; WITZTUM, J.L.; LIBBY, P. Lipid Lowering Reduces Oxidative Stress and Endothelial Cell Activation in Rabbit Atheroma. **Circulation.** v.106, p.1390-1396, 2002.

ALLISON, A. C. Immunosuppressive drugs: the first 50 years and a glance forward. **Immunopharmacology.** v. 47(2-3), p. 63-83, 2000.

ARMITAGE, J. The safety of statins in clinical practice. **Lancet.** v. 370(9601), p. 1781-90, 2007.

AZEVEDO, C. H.; CARVALHO, J. P.; VALDUGA, C. J.; MARANHÃO, R. C. Plasma Kinetics and Uptake by the Tumor of a Cholesterol-rich Microemulsion (LDE) Associated to Etoposide Oleate in Patients with Ovarian **Carcinoma Gynecol Oncol.** v. 97(1), p. 178-182, 2005.

BALLANTYNE, C.M. Current thinking in lipid lowering. **Am J Med.** v. 104(6A), p. 33S-44S, 1998.

BELLOT, R.; POUNA, P.; ROBERT, J. Separation and determination of liposomal and non-liposomal daunorubicin from the plasma of patients treated with daunoxone. **J. Chromatogr B.** v. 757, p. 257, 2001.

BERLINER, J. A.; TERRITO, M. C.; SEVANI, A.; RAMIN, S.; KIM, J. A.; BAMSHAD, B.; ESTERSON, M.; FOGELMAN, A. M. Minimally modified low density lipoprotein stimulates monocyte endothelial interactions. **J. Clin. Invest.**, v. 85, p.1260-1266, 1990.

BOYLE, J. J.; BOWYER, D. E.; WEISSBERG, P. L.; BENNETT, M. R. Human blood derived macrophages induce apoptosis in human plaque derived vascular smooth muscle cells by Fas ligand/Fas interactions. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** v.21(9), p. 1402-7, 2001.

BRAHN, E.; TANG, C.; BANQUERIGO, M. L. Regression of collagen-induced arthritis with taxol, a microtubule stabilizer. **Arthritis Rheum.** v. 37, p. 839, 1994.

BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. A Receptor-Mediated Pathway for Cholesterol Homeostasis. **Science**, v. 232, p. 34-47, 1986.

BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. Atherosclerosis. Scavenging for receptors. **Nature**. v. 343(6258), p. 508-509, 1990.

BULGARELLI, A.; LEITE, A. C. Jr.; DIAS, A. A.; MARANHÃO, R. C. Anti-atherogenic effects of methotrexate carried by a lipid nanoemulsion that binds to LDL receptors in cholesterol-fed rabbits. **Cardiovasc Drugs Ther.** no prelo, 2013.

BUSTOS, C.; HERNANDEZ-PRESA, M. A.; ORTEGO, M.; TUNON, J.; ORTEGA, L.; PEREZ, F.; DIAZ, C.; HERNANDEZ, G.; EGIDO, J. HMG-CoA Reductase Inhibition by Atorvastatin Reduces Neointimal Inflammation in a Rabbit Model of Atherosclerosis. **J Am Coll Cardiol.** v. 32, p. 2057-64, 1998.

CHALASANI, N. Statina and hepatotoxicity: focus on patients with fatty liver. **Hepatology.** v. 41(4), p. 690-5, 2005.

CHAN, E. S. L.; CRONSTEIN, B. N. Molecular action of methotrexate in inflammatory diseases. **Arthritis Res.** v. 4, p. 266-273, 2002.

CHARO, I.F.; TAUB, R. Anti-inflammatory therapeutics for the treatment of atherosclerosis. **Nature Reviews.** v.10, p.365-76, 2011.

CHAROENWANTHANANG, P.; LAWANPRASERT, S.; PHIVTHONG-NGAM, L.; PIYACHATURAWAT, P.; SANVARINDA, Y.; PORNTADAVITY, S. Effects of Curcuma comosa on the expression of atherosclerosis-related cytokine genes in rabbits fed a high-cholesterol diet. **Journal of Ethnopharmacology.** v.134 (3), p. 608-13, 2011.

CHOY, P. C.; SIOW, Y. L.; MYMIN, D.; KARMIN, O. Lipids and atherosclerosis. **Biochem. Cell Biol.**, v.82, p. 212-224, 2004.

COHEN, D. E.; ANANIA, F. A.; CHALASANI, N.; National Lipid Association Statin Safety Task Force Liver Expert Panel. An assessment of statin safety by hepatologists. **Am J Cardiol.** v. 97(8A), p. 77C-81C, 2006.

COLHOUN, H. M.; BETTERIDGE, D. J.; DURRINGTON, P. N.; HITMAN, G. A.; NEIL, H. A.; LIVINGSTONE, S. J.; THOMASON, M. J.; MACKNESS, M.I.; CHARLTON-MENYS, V.; FULLER, J. H.; CARDS investigators. Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicenter randomized placebo-controlled trial. **Lancet**. v. 364(9435), p. 685-96, 2004.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robbins**: patologia estrutural e funcional. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan S. A., p. 445-456, 2000.

CRISBY, M.; NORDIN-FREDRIKSSON, G.; SHAH, P. K.; YANO, J.; ZHU, J.; NILSSON, J. Pravastatin treatment increases collagen content and decreases lipid content, inflammation, metalloproteinases, and cell death in human carotid plaques: implications for plaque stabilization. **Circulation**. v. 103, p. 926–33, 2001.

CROONS, V.; DE MEYER, I.; HOUTEN, S. M.; MARTINET, W.; BULT, H.; HERMAN, A. G.; DE MEYER, G. R. Effect of statins on the viability of macrophages and smooth muscle cells. **J Cardiovasc Pharmacol**. v. 55(3), p. 269-75, 2010.

CUTOLO, M.; BISSO, A.; SULLI, A.; FELLI, L.; BRIATA, M.; PIZZORNI, C. Antiproliferative and antiinflammatory effects of methotrexate on cultured differentiating myeloid monocytic cells (THP-1) but not on synovial macrophages from rheumatoid arthritis patients. **J Rheumatol**. v. 27, p. 2551-2557, 2000.

CUTOLO, M.; SULLI, A.; PIZZORNI, C.; SERIOLO, B.; STRAUB, R. H. Anti-inflammatory mechanisms of methotrexate in rheumatoid arthritis. **Ann Rheum Dis**. v. 60, p. 729-735, 2001.

DAVID-COUTO, R.; DALLAN, L. A. O.; LISBOA, L. A. F.; KAWABE, L. T.; DE OLIVEIRA, S. A.; MARANHÃO, R. C. Deposition of cholesterol from a lipid microemulsion in fragments of blood vessels excised from patients during coronary bypass surgery. **Lipids**. v. 42(5), p. 411-418, 2007.

DAY, A. J.; SHEERS, M. Synthesis and removal of different cholesterol esters by aortic smooth muscle cells in culture. **Atherosclerosis**. v. 26, p. 483-92, 1977.

DEGEORGE, J. J.; AHN, C. H.; ANDREWS, P. A.; BROWER, M. E.; GIORGIO, D. W.; GOHEER, M. A.; HAM, D. Y. L.; MCGUINN, W. D.; SUN, C. J.; TRIPATHI, S. C. Regulatory considerations for preclinical development of anticancer drugs. **Journal of Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v.41(3), p.173-185, 1997.

DEL REAL, G.; JIMÉNEZ-BARANDA, S.; MIRA, E.; LACALLE, R. A.; LUCAS, P.; GÓMEZ-MOUTÓN, C.; ALEGRET, M.; PEÑA, J. M.; RODRÍGUEZ-ZAPATA, M.; ALVAREZ-MON, M.; MARTÍNEZ-A, C.; MAÑES, S. Statins inhibit HIV-1 infection by down-regulating Rho activity. **J Exp Med**. v. 200(4), p. 541-7, 2004.

DEVITA, V.T.; HELLMAN, S.; ROSENBERG, S.A. **Cancer: Principles & Practice of Oncology**. 7th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005. CD-ROM.

DONTAS, I. A.; MARINOU, K. A.; ILIOPOULOS, D.; TSANTILA, N.; AGROGIANNIS, G.; PAPALOIS, A.; KARATZAS, T. Changes of blood biochemistry in the rabbit animal model in atherosclerosis research; a time- or stress-effect. **Lipids Health Dis**. v. 10, p. 139-45, 2011.

DORLHIAC-LLACER, P. E.; MARQUEZINI, M. V.; TOFFOLETTO, O.; CARNEIRO, R. C. G.; MARANHÃO, R. C.; CHAMONE, D. A. F. In vitro cytotoxicity of the LDE:



daunorubicin complex in acute myelogenous leukemia blast cells. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v. 34(10), p. 1257-1263, 2001.

DZAU, V. J.; BRAUN-DULLAEUS, R. C., SEDDING, D. G. Vascular proliferation and atherosclerosis: new perspectives and therapeutic strategies. **Nat Med**, v. 8(11), p.1249-1256, 2002.

EATON, C. B. Traditional and emerging risk factors for cardiovascular disease. **Prim. Care**, v. 32, p. 963-976i, 2005.

ELKIND, M. S. V.; SCIACCA, R.; BODEN-ABDALA, B. Leukocyte count is associated with aortic arch plaque thickness. **Stroke**. v. 33, p. 2587-2592, 2002.

FIRESTONE, R. A. Low-density lipoprotein as a vehicle for targeting antitumor compounds to cancer cells. **Bioconjugate Chem.** v. 5, p. 105–113, 1994.

FITZPATRICK, F.A.; WHEELER, R. The immunopharmacology of paclitaxel (Taxol<sup>®</sup>), docetaxel (Taxotere<sup>®</sup>), and related agents. **International Immunopharmacology**. v. 3, p. 1699-1714, 2003.

FONSECA, F. A. Pharmacokinetics of statins. **Arq Bras Cardiol.** v. 85(5), p. 9-14, 2005.

FROSTEGÅRD, J.; HAEGERSTRAND, A.; GIDLUND, M.; NILSSON, J. Biologically modified LDL increases the adhesive properties of endothelial cells. **Atherosclerosis**. v. 90(2-3), p. 119-26, 1991.

FROSTEGÅRD, J.; NILSSON, J.; HAEGERSTRAND, A.; HAMSTEN, A.; WIGZELL, H.; GIDLUND, M. Oxidized low density lipoprotein induces differentiation and adhesion of human monocytes and the monocytic cell line U937. **Proc Natl Acad Sci U S A.** v. 87(3), p. 904-8, 1990.

GAL, D.; MACDONALD, P. C.; PORTER, J. C.; SMITH, J. W.; SIMPSON, E. R. Effect of cell density and confluency on cholesterol metabolism in cancer cells in monolayer culture. **Cancer Res.** v. 41(2), p. 473-477, 1981.

GENG, y.j.; LIBBY, P. Progression of atheroma: a struggle between death and procreation. **Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.** v. 22, p. 1370-1380, 2002.

GINSBURG, G. S.; SMALL, D. M.; ATKINSON, D. Microemulsions of phospholipids and cholesterol esters. Protein-free models of low density lipoprotein. **J. Biol. Chem.**, v.57, p.8216-8227, 1982.

GLASS, C. K; WITZTUM, J. L. Atherosclerosis: The road ahead. **Cell.**, v.104, p.503-516, 2001.

GONZALEZ-GAY, M. A.; GONZALEZ-JUANATEY, C.; MARTIN, J. Rheumatoid arthritis: a disease associated with accelerated atherogenesis. **Semin Arthritis Rheum.** v. 35(1), p. 8-17, 2005.

GOLDMAN, F.; HOHL, R. J.; CRABTREE, J.; LEWIS-TIBESAR, K.; KORETZKY, G. Lovastatin inhibits T cell antigen receptor signaling independent of its effects on ras. **Blood.** v. 88, p. 4611-19, 1996.

GRAZIANI, S. R.; IGREJA, F. A. F.; HEGG, R.; MENEGHETTI, C.; BRANDIZZI, L. I.; BARBOZA, R.; AMÂNCIO, R. F.; PINOTTI, J. A.; MARANHAO, R. C. Uptake of a cholesterol rich-emulsion by breast cancer. **Gynecol Oncol.** v. 85, p. 493-497, 2002.

GUIJARRO, C; BLANCO-COLIO, L. M.; ORTEGO, M.; ALONSO, C.; ORTIZ, A.; PLAZA, J. J. 3 Hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A reductase and isoprenylation inhibitors induce apoptosis of vascular smooth muscle cells in culture. *Circulation Research.* v. 83, p. 490–500, 1998.

HAMELIN, B.A.; TURGEON, J. Hydrophilicity:lipophilicity: relevance for the pharmacology and clinical effects of HMG-CoA reductase inhibitors. **Trends Pharmacol Sci.** v.19, p. 26–37, 1998.

HELDMAN, A. W.; CHENG, L.; JENKINS, G. M.; HELLER, P.F.; KIM, D. W.; WARE, M. J. R.; NATER, C.; HRUBAN, R. H.; REZAI, B.; ABELLA, B.S.; BUNGE, K. E.; KINSELLA, J. L.; SOLLOTT, S. J.; LAKATTA, E. G.; BRINKER, J. A.; HUNTER, W. L.; FROEHLICH, J. P. Paclitaxel stent coating inhibits neointimal hyperplasia at 4 weeks in a porcine model of coronary restenosis. **Circulation.** v. 103, p. 2289-2295, 2001.

HO, Y. K.; SMITH, R. G.; BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. Low-Density Lipoprotein (LDL) Receptor Activity in Human Acute Myelogenous Leukemia Cells. **Blood.** v. 52, p. 1099, 1978.

HOMMA, Y. Predictors of atherosclerosis. **J. Atheroscler Thromb.,** v.11, p.265-270, 2004.

HORWITZ, S. B. Mechanism of action of taxol. **Science.** v. 13, p. 134-136, 1992.

HORWITZ S. B.; COHEN D.; RAO S.; RINGEL I.; SHEN H. J.; YANG C. P. Taxol: mechanisms of action and resistant. **J. Natl. Cancer Inst. Monogr.**,v.15, p.55-61, 1993.

ICHIHARA, K.; SATOH, K. Disparity between angiographic regression and clinical events rates with hydrophobic statins. **Lancet.** v. 359(9324), p. 2195-8, 2002.

INAMI, S.; OKAMATSU, K.; TAKANO, M.; TAKAGI, G.; SAKAI, S.; SANO, J. Effects of statins on circulating oxidized low-density lipoprotein in patients with hypercholesterolemia. **Jpn Heart J.** v. 45, p. 969–75, 2004.

INOUE, T.; HAYASHI, M.; TAKAYANAGI, K.; MOROOKA, S. Lipid-lowering therapy with fluvastatin inhibits oxidative modification of low density lipoprotein and improves vascular endothelial function in hypercholesterolemic patients. **Atherosclerosis.** v. 160, p. 369–76, 2002.

ISTVAN, E. S.; DEISENHOFER, J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase. **Science**; v. 292, p. 1160–4, 2001.

JAAKKOLA, O.; NIKKARI T. Lipoprotein degradation and cholesterol esterification in primary cell cultures of rabbit atherosclerotic lesions. **Am J Pathol.** v. 137(2), p. 457-65, 1990.

JORGE, P. A.; ALMEIDA, E. A.; OZAKI, M. R.; JORGE, M.; CARNEIRO, A. Effects of atorvastatin, fluvastatin, pravastatin, and simvastatin on endothelial function, lipid peroxidation, and aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. **Arq. Bras. Cardiol.** v. 84 (4), p. 314-9, 2005.

JURCIC, J. G.; SCHEINBERG, D. A.; HOUGHTON, A. N. Monoclonal antibody therapy of cancer. **Cancer Chemother Biol Response Modif.** v. 16, p. 168-188, 1996.

KADAR A, GLASZ T. Development of atherosclerosis and plaque biology. **Cardiovasc Surg.** v. 9(2), p. 109-121, 2001.

KAN, P.; CHEN, Z. B.; LEE, C. J.; CHU, I. M. Development of nonionic surfactant/phospholipid o/w emulsion as a paclitaxel delivery system. **J Control Release.** v. 58(3), p. 271-278, 1999.

KATAOKA, H.; KUME, N.; MIYAMOTO, S.; MINAMI, M.; MORIWAKI, H.; MURASE, T.; SAWAMURA, T.; MASAKI, T.; HASHIMOTO, N.; KITA, T.; Expression of lectinlike oxidized low-density lipoprotein receptor-1 in human atherosclerotic lesions. **Circulation**, v.99, p.3110-3117, 1999.

KINGSTON, D. G. I.; Taxol, a molecule for all seasons. **Chem. Commun.** p. 867-880, 2001.

KNAPP, A.C.; HUANG, J.; STARLING, G.; KIENER, P.A. Inhibitors of HMG CoA reductase sensitize human smooth muscle cells to Fas-ligand and cytokine-induced cell death. **Atherosclerosis.** v. 152, p. 217-27, 2000.

KOBA, S.; PAKALA, R.; WATANABE, T.; KATAGIRI, T.; BENEDICT, C. R. Synergistic interaction between thromboxane A2 and mildly oxidized low density lipoproteins on vascular smooth muscle cell proliferation. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.** v. 63(6), p. 329-35, 2000.

KOH, K. K. Effects of statins on vascular wall: vasomotor function, inflammation, and plaque stability. **Cardiovasc Res.** v. 47(4), p. 648-57, 2000.

KRETZER, I.F.; MARIA, D.A.; MARANHÃO, R.C. Drug-targeting in combined cancer chemotherapy: tumor growth inhibition in mice by association of paclitaxel and etoposide with a cholesterol-rich nanoemulsion. **Cell Oncol.** v.35, p.451-60, 2012.

KUGIYAMA, K.; KERNS, S. A.; MORRISETT, J. D.; ROBERTS, R.; HENRY, P. D. Impairment of endothelium-dependent arterial relaxation by lysolecithin in modified low-density lipoproteins. **Nature.** v. 344(6262), p. 160-2, 1990.

LEE, R.M.; MASAKI, T.; YANG, H.S.; LIU, J.; CHEN, J.; LI, L.; BLUMENTHAL, D.K.; CHEUNG, A.K. Different Signaling Responses to Anti-Proliferative Agents in Human Aortic and Venous Smooth Muscle Cells. **Journal of Cellular Biochemistry.** v. 99, p. 835-844, 2006.

LEUNG, B. P.; SATTAR, N.; CRILLY, A.; PRACH, M.; MCCAREY, D. W.; PAYNE, H.; MADHOK, R.; CAMPBELL, C.; GRACIE, J. A.; LIEW, F. Y.; MCINNES, I. B. **A novel anti-inflammatory role for simvastatin in inflammatory arthritis.** **J Immunol.** v. 170(3), p. 1524-30, 2003.

LIAO, J. K. Statin therapy for cardiac hypertrophy and heart failure. **J Investig Med.** v. 52(4), p. 248-53, 2004.

LIBBY, P; AIKAWA, M. Mechanism of plaque stabilization with statins. **The American Journal of Cardiology.** v. 91 (4), p. 4-8, 2003.

LIBBY, P.; OKAMOTO, Y.; FOLCO, E. Inflammation in atherosclerosis: transition from theory to practice. *Circ. J.* v.74, p.213-20, 2010.

LIBBY, P.; THEROUX, P. Pathophysiology of coronary artery disease. ***Circulation***, v.111, p.3481-3488, 2005.

LO PRETE, A. C.; MARIA, D. A.; RODRIGUES, D. G.; VALDUGA, C. J.; IBAÑEZ, O. C. M.; MARANHÃO, R. C. Evaluation in melanoma-bearing mice of an etoposide derivative associated to a cholesterol rich-microemulsion. ***J Pharm Pharmacol.*** v. 58(6), p. 801-8, 2006.

LUNDBERG, B. The solubilization of lipophilic derivatives of podophyllotoxins in sub-micron sized lipid emulsions and their cytotoxic activity against cancer cells in culture. ***Int. J. Pharm.*** v.109, p. 73, 1994.

LUSIS, A. J.; MAR, R.; PAJUKANTA, P. Genetics of atherosclerosis. ***Annu. Ver. Hum. Genet.*** v. 5, p.189-218, 2004

MANFREDI, J. J.; HORWITZ, S. B. Taxol: an antimitotic agent with a unique mechanism of action. ***Pharmacol. Ther.*** v. 25, p. 83-125, 1984.

MARANHÃO, R. C.; CESAR, T. B.; PEDROSO, M. T. B.; HIRATA, M. H.; MESQUITA, C. H. Metabolic behavior in rats of a nonprotein microemulsion resembling low density lipoprotein. ***Lipids.*** v. 28, p. 691-696, 1993.

MARANHÃO, R. C.; FERES, M. C.; MARTINS, M. T.; MESQUITA, C. H.; TOFFOLETTO, O.; VINAGRE, C. G. C.; GIANINNI, S. D.; PILEGGI, F.; Plasma

kinetic behavior in hyperlipidemic subjects of a lipidic microemulsion that binds to LDL receptors. **Lipids**. v. 32, p. 627-633, 1997.

MARANHÃO, R.C.; GARICOCHEA, B., SILVA, E.L.; LLACER, P.D.; PILEGGI, F.J.C.; CHAMONE, D.A.F. Increased plasma removal of microemulsions resembling the lipid phase of low-density lipoproteins (LDL) in patients with acute myeloid leukemia: a possible new strategy for the treatment of the disease. **Brasilian J. Med. Biol. Res.** v.25(9), p.1-5, 1992.

MARANHÃO, R.C.; GRAZIANI, S.R.; YAMAGUCHI, N.; MELO, R.F.; LATRILHA, M.C.; RODRIGUES, D.G; COUTO, R.D.; SCHREIER, S.; BUZAID, A. C. Association of carmustine with a lipid emulsion: in vitro, in vivo and preliminary studies in cancer patients. **Cancer Chemother. Pharmacol.** v. 49(6), p. 487-498, 2002.

MARANHÃO, R. C.; TAVARES, E. R.; PADOVEZE, A. F.; VALDUGA, C. J.; RODRIGUES, D. G.; PEREIRA, M. D. Paclitaxel associated with cholesterol-rich nanoemulsions promotes atherosclerosis regression in the rabbit. **Atherosclerosis**. v. 197, p. 959-966, 2008.

MARANHÃO, R. C.; TERCYAK, A. M.; REDGRAVE, T. G. Effects of cholesterol content on the metabolism of protein-free emulsion models of lipoproteins. **Biochem. Biophys. Acta**. v. 875(2), p. 247-255, 1986.

MARTINET, W.; KNAAPEN, M.W.M.; DE MEYER, G.R.Y.; HERMAN, A.G.; KOCKX, M.M. Oxidative DNA Damage and Repair in Experimental Atherosclerosis Are Reversed by Dietary Lipid Lowering **Circ. Res.** v.88, p. 733-739, 2001.



MCFARLANE, S. I.; MUNIYAPPA, R.; FRANCISCO, R. Pleiotropic effects of statins: lipid reduction and beyond. **Clin Endocrinol Metab.** v. 87, p. 1451-8, 2002.

MCFARLANE, S. I.; MUNIYAPPA, R.; SHIN, J. J.; BAHTIYAR, G.; SOWERS, J. R. Osteoporosis and cardiovascular disease: brittle bones and boned arteries, is there a link? **Endocrine.** v. 23(1), p. 1-10, 2004.

MOURA JA, VALDUGA CJ, TAVARES ER, KRETZER IF, MARIA DA, MARANHÃO RC. Novel formulation of a methotrexate derivative with a lipid nanoemulsion. **Int J Nanomedicine.** v. 6, p. 2285-95, 2011.

McTAGGART, F. Comparative pharmacology of rosuvastatin. **Atheroscler Suppl.** V. 4(1), p. 9-14, 2003.

MEHRA, M. R.; RAVAL, N. Y. Metaanalysis of statins and survival in de novo cardiac transplantation. **Transplant Proc.** v. 36(5), p. 1539-41, 2004.

MOSLEY, S. T.; GOLDSTEIN, J. L.; BROWN, M. S.; FALCK, J. R.; ANDERSON, R. G. Targeted killing of cultured cells by receptor-dependent photosensitization. **Proc Natl Acad Sci USA.** v. 78(9), p. 5717-21, 1981.

NADKARNI, S. K.; BOUMA, B. E.; DE BOER, J.; TEARNEY, G. J. Evaluation of collagen in atherosclerotic plaques: the use of two coherent laser based imaging methods. **Lasers Med Sci.** v. 24(3), p. 439-45, 2009.

NAOUM, F.A.; GUALANDRO, S.E.; LATRILHA, M.C.; MARANHÃO, R.C. Plasma kinetics of a cholesterol-rich microemulsion in subjects with heterozygous beta-thalassemia. **Am. J. Hematol.** v.77(4), p.340-5, 2004.

NEWBY AC, ZALTSMAN AB. Fibrous cap formation or destruction—the critical importance of vascular smooth muscle cell proliferation, migration and matrix formation. **Cardiovasc Res.** v. 41, p. 345–360, 1999.

OGA, S. Associação Medicamentosa. In: OGA, S.; BASILE, A.C.; CARVALHO, M.F. **Guia Zanini-Oga de interações medicamentosas.** São Paulo. Atheneu, p. 3-22, 2002.

OHARA, Y.; PETERSON, T. E.; SAYEGH, H.S.; SUBRAMANIAN, R. R.; WILCOX, J. N.; HARRISON, D. G. Dietary correction of hypercholesterolemia in the rabbit normalizes endothelial superoxide anion production. **Circulation.** v. 92(4), p. 898-903, 1995.

ONETTO, N.; CANETTA, R.; WINOGRAD, B.; CATANE, R.; DOUGAN, M.; GRECHKO, J.; BURROUGHS, J.; ROZENCWEIG, M. Overview of Taxol safety. **J Natl Cancer Inst Monogr.** v. 15, p. 131-139, 1993.

PARKER, R. A.; HUANG, Q.; TESHAMARIAM, B. Influence of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase inhibitors on endothelial nitric oxide synthase and the formation of oxidants in the vasculature. **Atherosclerosis.** v. 169(1), p. 19-29, 2003.

PARNESS, J.; HORWITZ, S. B. Taxol binds to polymerized tubulin in vitro. **J Cell Biol.** v. 91, p. 479-487, 1981.

PATTERSON, C.; MAPERA, S.; LI, H.; MADAMANCHI, N.; HILLIARD, E.; LINEBERGER, R.; HERRMANN, R.; CHARLES, P. Comparative Effects of Paclitaxel and Rapamycin on Smooth Muscle Migration and Survival Role of Akt-Dependent Signaling. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** v.26, p.1473-1480, 2006.

PAZDUR, R.; KUDELKA, A. P.; KAVANAGH, J. J.; COHEN, P. R.; RABER, M. N. The taxoids: paclitaxel (Taxol<sup>®</sup>) and docetaxel (Taxotere<sup>®</sup>). **Cancer treatment reviews.** v. 19, 351-386, 1993.

PLUTZKY, J. The vascular biology of atherosclerosis. **Am. J. Med.**, v.115, p.55S-61S, 2003.

PRODANOWICH, S.; MA, F.; TAYLOR, J. R.; PEZON, C.; FASIHI, T.; KIRSNER, R. S. Methotrexate reduces incidence of vascular diseases in veterans with psoriasis and rheumatoid arthritis. **J Am Acad Dermatol.** v. 2(2), p. 262-267, 2005.

QIAO, Z.; REN, J.; CHEN, H. Simvastatin Reduces Expression and Activity of Lipoprotein-associated Phospholipase A2 in the Aorta of Hypercholesterolaemic Atherosclerotic Rabbits. **The Journal of International Medical Research.** v. 37, p. 1029-1037, 2009.

REILLY, M. P.; PRATICÒ, D.; DELANTY, N.; DIMINNO, G.; TREMOLI, E.; RADER, D.; KAPOOR, S.; ROKACH, J.; LAWSON, J.; FITZGERALD, G. A. Increased formation of distinct F2 isoprostanes in hypercholesterolemia. **Circulation.** v. 98(25), p. 2822-8, 1998.

RENNIK, R. E.; CAMPBELL, J. H.; CAMPBELL, G. R. Macrophages enhance binding of beta-VLDL and cholesterol ester accumulation in cultured aortic smooth muscle cells. **Heart Vessels**. v. 9(1), p. 19-29, 1994.

RENSEN, P. C.; SCHIFFELERS, R. M.; VERSLUIS, A. J.; BIJSTRBOSCH, M. K.; VAN KUIJK-MEUWISSEN, M. E.; VAN BERKEL, T. J. Human recombinant apolipoprotein E-enriched liposomes can mimic low-density lipoproteins as carriers for the site-specific delivery of antitumor agents. **Mol Pharmacol**. v. 52, p. 445-55, 1997.

RICCIARELLI, R.; ZINGG, J-M.; AZZI, A. Vitamin E reduces the uptake of oxidized LDL by inhibiting CD 36 scavenger receptor expression in cultured aortic smooth muscle cells. **Circulation**, v.102, p.82-87, 2000.

RIDKER, P. M.; GENEST, J.; LIBBY, P. Risk factors of atherosclerotic disease. *In* **Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine**. E. Braunwald, D. P. Zipes, P. Libby, editors. Philadelphia: WB Saunders Company, 2001. p. 1010-1039.

RODRIGUES, D. G.; COVOLAN, C. C.; CORADI, S. T.; BARBOZA, R.; MARANHÃO, R. C. Use of a cholesterol- rich emulsion that binds to low-density lipoprotein receptors as a vehicle for paclitaxel. **J. Pharm. and Pharmacol**. v. 54(6), p. 765-772, 2002.

RODRIGUES, D. G.; MARIA, D. A.; FERNANDES, D. C.; VALDUGA, C. J.; COUTO, R. D.; IBANEZ, O. C.; MARANHÃO, R. C. Improvement of paclitaxel therapeutic index by derivatization and association to a cholesterol-rich microemulsion: *in vitro* and *in vivo* studies. **Cancer Chemother Pharmacol**. v. 55(6), p. 565-576, 2005.

RODRIGUEZA, W. V.; KLIMUK, S. K.; PRITCHARD, P. H.; HOPE, M. J. Cholesterol mobilization and regression of atheroma in cholesterol-fed rabbits induced by large unilamellar vesicles. **Biochem Biophys Acta**. v. 1368, p. 306-320, 1998.

ROSOWSKY, A.; FORSCH, R. A.; YU, C. S.; LAZARUS, H.; BEARDSLEY, G. P. Methotrexate analogues. 21. Divergent influence of alkyl chain length on the dihydrofolate reductase affinity and cytotoxicity of methotrexate monoesters. **J Med Chem**. v. 27(5), p. 605-609, 1984.

ROSS, R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. **N. Eng. J. Med**. v.14, p.340-2, 1999.

ROWINSKY, E. K.; CAZENAVE, L. A. DONEHOWER, R. C. Taxol - a novel investigational antimicrotubule agent. **J. Natl. Cancer Inst**. v.82, p. 1247-1259, 1990.

ROWINSKY, E. K.; EISENHAUER, E. A.; CHAUDHRY, V.; ARBUCK, S. G.; DONEHOWER, R. C. Clinical toxicities encountered with paclitaxel (Taxol). **Semin Oncol**. v. 4(3), p. 1-15, 1993.

SCALIA, R.; APPEL, J. Z. 3RD.; LEFER, A. M. Leukocyte-endothelium interaction during the early stages of hypercholesterolemia in the rabbit: role of P-selectin, ICAM-1, and VCAM-1. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. v. 18(7), p. 1093-100, 1998.

SCHIFF, P. B.; FANT, J.; HORWITZ, S. B. Promotion of microtubule assembly in vitro by taxol. **Nature**. v. 7, p. 277:665, 1979.

SENGUPTA, S.; TYAGI, P.; VELPADIAN, T.; GUPTA, Y. K.; GUPTA, S. K. Etoposide encapsulated in positively charged liposomes: pharmacokinetic studies in mice and formulation stability studies. **Pharmacol. Res.** v. 42(5), p. 459-464, 2000.

SERAJUDDIN, A. T. M.; RANADIVE, S. A.; MAHONEY, E. M. Relative lipophilicities, solubilities, and structure-pharmacological considerations of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMGCoA) reductase inhibitors pravastatin, lovastatin, mevastatin, and simvastatin. **J Pharm Sci.** v. 80, p. 830–4, 1991.

SEVER, P. S.; DAHLÖF, B.; POULTER, N. R.; WEDEL, H.; BEEVERS, G.; CAULFIELD, M.; COLLINS, R.; KJELDSSEN, S. E.; KRISTINSSON, A.; MCINNES, G. T.; MEHLSSEN, J.; NIEMINEN, M.; O'BRIEN, E.; OSTERGREN, J.; ASCOT investigators. Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial--Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicentre randomised controlled trial. **Lancet.** v. 361(9364), p. 1149-58, 2003.

SHIOMI M, ITO T. Effect of cerivastatin sodium, a new inhibitor of HMG-CoA reductase, on plasma lipid levels, progression of atherosclerosis, and the lesional composition in the plaques of WHHL rabbits. **Br J Pharmacol.** v. 126, p. 961–968, 1999.

SOLLOT, S. J.; CHENG, L.; PAULY, R. R.; JENKINS, G. M.; MONTICONE, R. E.; KUZUYA, M.; FROEHLICH, J. P.; CROW, M. T.; LAKATTA, E. K.; KINSELLA, J. L. Taxol Inhibits Neointimal Smooth Muscle Cell Accumulation after Angioplasty in the Rat. **The Journal of Clinical Investigation.** v. 95, p. 1869-1735, 1995.

STAELS, B. A cholesterol tether. **Nature.** v. 417, p. 699-701, 2002.

STAFFA, J. A., CHANG, J., GREEN, L. Cerivastatin and reports of fatal rhabdomyolysis. **N Engl J Med.** v. 346(7), p. 539-40, 2002.

STEIN, Y.; STEIN, O. Does therapeutic intervention achieve slowing of progression or bona fide regression of atherosclerotic lesions? **Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.** v. 21, p. 183-188, 2001.

STOCKER, R.; KEANEY JUNIOR, J. F. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. **Physiol. Rev.**, v.84, p.1381-1478, 2004.

STONE, G.W.; ELLIS, S. G.; CANNON, L.; MANN, J. T.; GREENBERG, J. D.; SPRIGGS, D.; O'SHAUGHNESSY, C. D.; DEMAIO, S.; HALL, P.; POPMA, J. J.; KOGLIN, J.; RUSSELL, M. E. Comparison of a polymer-based paclitaxel-eluting stent with a bare metal stent in patients with complex coronary artery disease: a randomized controlled trial. **JAMA.** v. 294(10), p. 1215-1223, 2005.

TAVARES, E. R.; FREITAS, F. R.; DIAMENT, J.; MARANHÃO, R. C. Reduction of atherosclerotic lesions in rabbits treated with etoposide associated with cholesterol-rich nanoemulsions. **Int J Nanomedicine.** v. 6, p. 2297-304, 2006.

TEIXEIRA, R. S.; VALDUGA, C. J.; BENVENUTTI, L. A.; SCHREIER, S.; MARANHÃO, R. C. Delivery of daunorubicin to cancer cells with decreased toxicity by association with a lipidic nanoemulsion that binds to LDL receptors. **J Pharm Pharmacol.** v. 60(10), p. 1287-95, 2008.

TIAN, H.; CRONSTEIN, B. N. Understanding the mechanisms of action of methotrexate. **Bull NYU Hosp Jt Dis.** v. 65(3), p. 168-173, 2007.

TOMÁS, M.; GARCÍA-FARIA, F.; VILLA, J.; TORRENTS, A.; COVAS, M.; MARRUGAT, J. Effect of simvastatin therapy on paraoxonase activity and related lipoproteins in familial hypercholesterolemic patients. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** v. 20(9), p. 2113-9, 2000.

TYAGI, P.; SENGUPTA, S.; VELPADIAN, T.; GUPTA, Y. K.; KOCHUPILLAI, V.; GUPTA, S. K. Evaluation of the antitumour activity of liposomal formulations of etoposide against choriocarcinoma xenografts in Balb/c nu/nu mice. **Pharm. Commun.** v. 5, v. 595, 1999.

VALDUGA, C. J.; FERNANDES, D. C.; LO PRETE, A. C.; AZEVEDO, C. H.; RODRIGUES, D. G.; MARANHÃO, R. C. Use of a cholesterol-rich microemulsion that binds to low-density lipoprotein receptors as vehicle for etoposide. **J Pharm Pharmacol.** v. 55(12), p. 1615-22, 2003.

VAN NIEUW AMERONGEN, G. P.; VAN HINSBERGH, V. W. M. Targets for pharmacological intervention of endothelial hyperpermeability and barrier function. **Vascular Pharmacology.** v. 39, p. 257–272, 2003.

VAN TITS, L. J.; SMILDE, T. J.; VAN WISSEN, S.; DE GRAAF, J.; KASTELEIN, J. J.; STALENHOEF, A. F. Effects of atorvastatin and simvastatin on low-density lipoprotein subfraction profile, low-density lipoprotein oxidizability, and antibodies to oxidized low-density lipoprotein in relation to carotid intima media thickness in familial hypercholesterolemia. **J Investig Med.** v. 52, p. 177–84, 2004.

VAUGHAN, C. J., GOTTO, A. M. Jr., BASSON, C. T. The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. **J Am Coll Cardiol.** v. 35(1), p. 1-10, 2000.



WANI MC, TAYLOR HL, WALL, ME, COGGON P, MCPHAIL AT. Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic agent from *Taxus brevifolia*. **J. Am. Chem. Soc.** v. 93, p. 2325-2327, 1971.

WEISS, R.B.; DONEHOWER, R. C.; WIERNIK, P. H.; OHNUMA, T., GRALLA, R. J.; TRUMP, D. L.; BAKER, J. R.; VAN ECHO, D. A.; VON HOFF, D. D.; LEYLAND-JONES, B. Hypersensitivity reactions from taxol. **J Clin Oncol.** v. 8(7), p. 1263-1268, 1990.

WIERNIK, P.; SCHWARTZ, E. L.; STRAUMAN, J. J.; DUTCHER, J. P.; LIPTON, R. B.; PAIETTA, E. Phase I clinical and pharmacokinetic study of taxol. **Cancer Res.** v. 47, p. 2485-2493, 1987.

WILLIAMS, K. J.; TABAS, I. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.** v. 15, p. 551-561, 1995.

WITTES, R. E.; GOLDIN, A. Unresolved issues in combination chemotherapy. **Cancer Treat. Rep.** v.70(1), p.105-125, 1986.

WU, H.; MOULTON, K. S.; GLASS, C. K. Macrophage scavenger receptors and atherosclerosis. **Trends Cardiovasc. Med.**, v.2, p. 220-225, 1992.

XU, G.; SALEN, G.; SHEFER, S.; NESS, G.C.; NGUYEN, L.B.; PARKER, T.S. ET AL., Unexpected inhibition of cholesterol 7 alpha-hydroxylase by cholesterol in New Zealand White and Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. **J Clin Invest.**, v. 95, p.149-504, 1995.

YLÄ-HERTTUALA, S.; LUOMA, J.; KALLIONPPAA, H.; LAUKKANEN, M.; LEHTOLAINEN, P.; VIITA, H. Pathogenesis of atherosclerosis. **Maturitas**, v.23, p.47-49, 1996.

YLÄ-HERTTUALA, S.; PALINSKI, W.; ROSENFELD, M. E.; PARTHASARATHY, S.; CAREW, T.E.; BUTLER, S.; WITZTUM, J. L.; STEINBERG, D. Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man. **J. Clin. Invest.**, v.84, p.1086-1095, 1989.

ZHANG, L.; LIU, Y.; LU, X.T.; WU, Y.L.; ZHANG, C. JI, X.P.; WANG, R.; LIU, C.X.; FENG, J.B.; JIANG, H.; XU, X.S.; ZHAO, Y.X.; ZHANG, Y. Traditional Chinese medication Tongxinluo dose-dependently enhances stability of vulnerable plaques: a comparison with a high-dose simvastatin therapy. **Am J Physiol Heart CircPhysiol**. v. 297, p. H2004–H2014, 2009.

ZHU, Y.; BUJO, H.; YAMAZAKI, H.; HIRAYAMA, S.; KANAKI, T.; TAKAHASHI, K.; SHIBASAKI, M.; SCHNEIDER, W. J.; SAITO, Y. Enhanced expression of the LDL receptor family member LR11 increases migration of smooth muscle cells in vitro. **Circulation**. v. 105(15), p. 1830-1836, 2002.

ZIPES, D. P.; LIBBY, P.; BONOW, R. O.; BRAUNWD, E. **Braunwald's heart disease**: a textbook of cardiovascular disease. 7 ed. Philadelphia: Saunders, 2005.