

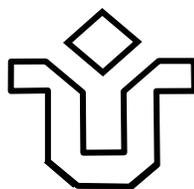
**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PÓS GRADUAÇÃO STRICTO-SENSU  
MESTRADO EM NEUROLOGIA**

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO SUPRAFISIOLÓGICA  
DE NICOTINAMIDA EM SHR-sp**

**RAFAEL BRAUNE DE CASTRO**

**PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. LUCIA MARQUES VIANNA**  
ORIENTADOR

Rio de Janeiro, RJ - Brasil  
2006



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PÓS GRADUAÇÃO STRICTO-SENSU  
MESTRADO EM NEUROLOGIA**

Dissertação apresentada ao término do Curso de Pós-Graduação Stricto-Sensu em Neurologia, Área de Concentração Neurociências, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre.

**CASTRO, Rafael Braune de**

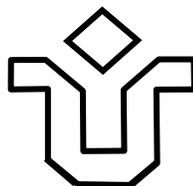
Efeitos da suplementação suprafisiológica de Nicotinamida em SHR-sp / Rafael Braune de Castro. Rio de Janeiro: UNIRIO / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2006.  
53f:il.; 30cm.

Orientador: Lucia Marques Vianna.

Dissertação: grau de Mestrado (Neurologia - Neurociências) – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde , 2006.

Referências Bibliográficas: f: 35-41.

1 . Nicotinamida. 2. Acidente Vascular Encefálico. 3. Hipertensão. I. Vianna, Lucia M. II. Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Escola de Medicina e Cirurgia, Neurologia. III. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PÓS GRADUAÇÃO STRICTO-SENSU  
MESTRADO EM NEUROLOGIA

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO SUPRAFISIOLÓGICA DE  
NICOTINAMIDA EM SHR-sp**

**Por**

**RAFAEL BRAUNE DE CASTRO**

Dissertação de Mestrado

**BANCA EXAMINADORA**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lucia Marques Vianna

Prof. Dr. Hércio Alvarenga

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Andréa Monte Alto Costa

Conceito:.....

Rio de Janeiro, RJ - Brasil  
2006

”Quand on ne sait pas ce l’on cherche, on ne voit pas ce l’on trouve”  
Claude Bernard

## DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação a todos que me ajudaram, cada qual com aquilo que lhe foi possível.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora por me acompanhar na monografia de graduação, monografia de aperfeiçoamento e agora no mestrado.

Agradeço a minha mãe e pai pela oportunidade de cursar o mestrado.

Agradeço a minha namorada Fernanda Almeida por me ajudar nos momentos difíceis e de ansiedade.

Agradeço a todos os amigos do laboratório pela ajuda que me foi dispensada.

Agradeço a todos os amigos do mestrado, docentes e discentes, por tornarem o curso mais prazeroso.

Agradeço em especial ao meu grande amigo e mestrando Leonardo Murad que me foi de grande valia na realização dos ensaios, redação de artigos e no dia-a-dia.

A todos o meu sincero obrigado.

## RESUMO

A nicotinamida é uma vitamina antioxidante e possivelmente tem efeitos protetores contra o acidente vascular encefálico. O objetivo desta dissertação foi avaliar os efeitos da suplementação de nicotinamida sobre fatores de risco para o AVE, tais como hipercolesterolemia, diabetes e hipertensão. Ratos Espontaneamente Hipertensos – sujeitos ao AVE (SHR-sp) foram separados em 6 grupos (n=6, por grupo), iniciando com 6 semanas de idade. Foram submetidos a período basal e após divididos em grupos. Controle sem qualquer alteração (C), tratado que recebeu nicotinamida (T), controle que recebeu somente a dieta HCHL (CD), tratado que recebeu dieta HCHL mais suplementação com nicotinamida (TD), grupo diabético recebendo a dieta HCHL e suplementação (TDstrepto) e diabético recebendo a dieta HCHL e estreptozotocina (CDstrepto). suplementação foi realizada por 28 dias enquanto os outros grupos recebiam água. Foram avaliados: pressão arterial sistólica, glicemia, colesterol total, LDL e HDL, assim como parâmetros biológicos gerais e neurológicos. Foi observada uma redução da pressão arterial em todos os grupos tratados com nicotinamida. Houve uma redução do colesterol total nos animais do grupos T e TDstrepto e não no grupo TD. Houve redução de LDL e aumento de HDL em todos os animais suplementados. No tocante a glicemia, a nicotinamida foi eficaz em reduzir valores de glicose plasmática em todos os animais suplementados, inclusive nos animais diabéticos.

## ABSTRACT

Nicotinamide is an antioxidant vitamin and may have protective effects on stroke risk factors. The objective of this work was to evaluate the effects of nicotinamide supplementation on stroke risk factors, such as high blood cholesterol, diabetes and hypertension. Spontaneously Hypertensive Rats – stroke prone (SHR-sp) were separated in 6 groups (n=6, per group), starting with 6 weeks of age. They were submitted to a basal period and afterwards divided in groups. Control group without any alteration (C), treated that received nicotinamide supplementation (T), control that received only the HCHL diet (CD), treated that received HCHL diet plus supplementation with nicotinamide (TD), a diabetic group that received HCHL diet plus nicotinamide (TDstrepto) and another diabetic group that received HCHL diet (CDstrepto). The supplementation was carried by 28 days while the other groups received water. Systolic blood pressure, blood glucose, total cholesterol, LDL and HDL were evaluated, as well as general biological parameters and neurological parameters. It was observed a reduction on blood pressure of all groups treated with nicotinamide. There was a reduction on total cholesterol on treated group and TDstrepto group, but on the TD group there was no reduction. There was a reduction on LDL and an increase on HDL in all supplemented groups. Concerning blood glucose, nicotinamide supplementation was able to reduce values of all groups, including the diabetic one.

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Apo A – apolipoproteína A  
Apo B – apolipoproteína B  
AVE – acidente vascular encefálico  
C – controle  
CD – controle dieta  
CDstrepto – controle com dieta e estreptozotocina  
DM – diabetes mellitus  
HCHL – Hipercalórica hiperlipídica  
HDL – lipoproteína de alta densidade  
LDL – lipoproteína de baixa densidade  
LINDCD – Laboratório de Investigação em Nutrição e Doenças Crônico-Degenerativas  
NAD – nicotinamida adenina dinucleotídeo  
NADP – nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato  
Nam – nicotinamida  
NF-KB – fator nuclear KB  
NOD mouse – ratos espontaneamente não obesos  
PARP – poli(adp-ribose)polimerase  
SHR – ratos espontaneamente hipertensos  
SHR-sp – ratos espontaneamente hipertensos – sujeitos ao AVE  
T – tratado  
TD – tratado dieta  
TDstrepto – tratado com dieta e estreptozotocina  
VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade  
WKY – Wistar Kyoto

**LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

	<b>pág.</b>
<b>Figura 1 Nicotinamida.....</b>	<b>6</b>
<b>Figura 2 Ácido nicotínico .....</b>	<b>6</b>
<b>Figura 3 Gaiola metabólica.....</b>	<b>15</b>
<b>Figura 4 Procedimento de gavagem.....</b>	<b>17</b>
<b>Figura 5 Pletismógrafo.....</b>	<b>19</b>
<b>Gráfico 1 Pressão Arterial Sistólica.....</b>	<b>23</b>
<b>Gráfico 2 Colesterol total.....</b>	<b>25</b>
<b>Gráfico 3 Colesterol HDL.....</b>	<b>26</b>
<b>Gráfico 4 Colesterol LDL.....</b>	<b>27</b>
<b>Gráfico 5 Glicemia.....</b>	<b>29</b>

## SUMÁRIO

	pág
<b>RESUMO.....</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>ix</b>
<b>LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....</b>	<b>ix</b>
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES E GRÁFICOS.....</b>	<b>x</b>
<b>SUMÁRIO.....</b>	<b>xi</b>
<b>1 – INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2 - REVISÃO BIBLIOGRAFICA .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 – ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO.....</b>	<b>3</b>
<b>2.2.1 – NIACINA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.2.2 – ABSORÇÃO, BIOSÍNTESE E ARMAZENAMENTO .....</b>	<b>7</b>
<b>2.2.3 – AGENTE FARMACOLÓGICO.....</b>	<b>8</b>
<b>2.3 – MODELO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>11</b>
<b>3 – OBJETIVOS.....</b>	<b>13</b>
<b>3.1 – OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>13</b>
<b>3.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>13</b>
<b>4 – METODOLOGIA.....</b>	<b>14</b>
<b>4.1 – ANIMAIS.....</b>	<b>14</b>
<b>4.2 – CONDIÇÕES AMBIENTAIS.....</b>	<b>15</b>
<b>4.3 – DIETA E SUPLEMENTAÇÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>4.4 – ANÁLISE DE PARAMETROS BIOLÓGICOS GERAIS.....</b>	<b>17</b>
<b>4.5 – ANÁLISE DOS PARÂMETROS NEUROLÓGICOS .....</b>	<b>17</b>

<b>4.6 – INDUÇÃO DO DIABETES MELLITUS.....</b>	<b>18</b>
<b>4.7 – ANÁLISE DE COLESTEROL TOTAL E FRAÇÕES.....</b>	<b>18</b>
<b>4.8 – PLETISMOGRAFIA.....</b>	<b>19</b>
<b>4.9 – ANÁLISE DE GLICEMIA.....</b>	<b>20</b>
<b>4.10 – SACRIFÍCIO E COLETA DE MATERIAL.....</b>	<b>20</b>
<b>4.11 – ANÁLISE ESTATÍSTICA.....</b>	<b>20</b>
<b>5 – RESULTADOS.....</b>	<b>21</b>
<b>5.1 – PARÂMETROS BIOLÓGICOS GERAIS.....</b>	<b>21</b>
<b>5.2 – PARÂMETROS NEUROLÓGICOS.....</b>	<b>21</b>
<b>5.3 – LONGEVIDADE.....</b>	<b>21</b>
<b>5.4 – PRESSÃO ARTERIAL.....</b>	<b>22</b>
<b>5.5 – COLESTEROL TOTAL E FRAÇÕES.....</b>	<b>24</b>
<b>5.6 – METABOLISMO DA GLICOSE.....</b>	<b>28</b>
<b>6 – DISCUSSÃO.....</b>	<b>30</b>
<b>7 – CONCLUSÃO.....</b>	<b>34</b>
<b>Referências Bibliográficas.....</b>	<b>35</b>

## 1-INTRODUÇÃO

O acidente vascular encefálico (AVE) é a terceira maior causa de morte e a maior causa de incapacitação no mundo. No Brasil estes dados também são válidos, sendo o AVE uma das maiores causas de morte e também a maior causa de incapacitação (OLIVEIRA, 2001). Estudos epidemiológicos demonstraram que o risco populacional atribuível ao AVE é de 18% em homens e 22% em mulheres e seus principais fatores de risco são a hipertensão e o diabetes. O AVE foi a principal causa de mortalidade em um estudo prospectivo em idosos diabéticos (MANKOVSKY & ZIEGLER, 2004).

A Niacina é sabidamente um agente antioxidante e é possivelmente efetiva no tratamento das dislipidemias e no diabetes. O risco potencial da utilização por longos períodos deve ser criticamente avaliado, em virtude de haver relatos na literatura de vermelhidão e prurido que podem ser associados a vasodilatação mediada por prostaglandinas (KEENAN et al, 1991) e de hiperhomocisteinemia (BASU et al, 2002). É excretada sob a forma de piridona metilada, sendo responsável por essa metilação a S-adenosilmetionina. A administração de altas doses de niacina pode levar a uma disfunção do metabolismo da metionina (BASU et al, 2002) e tal alteração levaria ao aumento da homocisteína plasmática e urinária, possivelmente um fator de risco independente para a doença oclusiva arterial (FINKELSTEIN, 2000).

Acredita-se a nicotinamida possa ter ação protetora celular uma vez que este composto parece prevenir ou atrasar o aparecimento do diabetes em ratos espontaneamente não-obesos (NOD mouse), que são um dos modelos experimentais de DM (MORDES et al, 2004), assim como reduzir o dano citotóxico causado pela

estreptozotocina que seria a forma química de indução do diabetes (JUNOD et al, 1969). Na presença de nicotinamida as células apresentam maior resistência a produtos tóxicos, infiltração de macrófagos e seus produtos e aumento de suas capacidades regenerativas (MASIELLO et al, 1998).

Além da função antioxidante, a niacina também é um inibidor da Poli(ADP-ribose)polimerase (PARP). A PARP possui papel crucial no reparo, replicação e transcrição do DNA, e é mediadora da morte celular após isquemia ou excitotoxicidade por glutamato (CHOI, 1985). Em resposta aos danos constantes ao DNA, a atividade da PARP pode se tornar excessiva depletando nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) e possivelmente ATP. A inibição da PARP tem se mostrado eficaz no tratamento de condições patológicas envolvendo o estresse oxidativo (GUPTA et al, 2000). Prova deste conceito é o achado de que a ação protetora da nicotinamida no diabetes é perdida em ratos knock-out para PARP na ilhotas pancreáticas (MASUTANI et al, 1999).

Outro ponto importante seria a íntima ligação entre a PARP e o fator nuclear KB (NF-KB), um regulador da apoptose neuronal. A ativação persistente de NF-KB é presente em neurônios destinados a morte e o efeito neuroprotetor dos antioxidantes pode estar associado a inibição do NF-KB. Assim sendo, a inibição de NF-KB através da administração de antioxidantes pode ter um efeito protetor devido ao fato das espécies reativas de oxigênio ativarem NF-KB durante a isquemia cerebrofocal acarretando em efeitos deletérios a sobrevivência neuronal (SCHALLER, 2005).

## **2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 – ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO**

O acidente vascular encefálico (AVE), é frequentemente chamado de doença cerebrovascular ou derrame, sendo uma das principais causas de morte no Brasil, a terceira causa de morte nos Estados Unidos, atingindo cerca de 700 mil americanos ao ano, e a principal causa de incapacitação no mundo (OLIVEIRA, 2001). Entretanto, os coeficientes de mortalidade encontram-se em declínio, cerca de 7% ao ano após 1973 nos Estados Unidos e 4% na Europa no período compreendido entre 1970 a 1985. No Brasil os índices de decréscimo foram da ordem de 17% nos biênios 1970-71 e 1980-81 em ambos os sexos, porém tal benefício somente se estende a determinadas faixas etárias mais avançadas (LOLIO & LAURENTI, 1986).

Os AVEs podem ser subdivididos em dois tipos: isquêmico e hemorrágico. Os isquêmicos ocorrem por obstrução das principais artérias que levam sangue ao cérebro, as áreas irrigadas por tais vasos passam a deixar de receber oxigênio. Os hemorrágicos ocorrem por ruptura de uma dessas artérias, levando ao sangramento cerebral ou subaracnóidiano. Os isquêmicos são mais frequentes que os hemorrágicos, se apresentando em cerca de 80% dos casos (CAVALHEIRO, 1993), porém os hemorrágicos são mais associados à letalidade (GUIMARÃES, 1999).

Vários são os fatores de risco para a doença cerebrovascular, sendo alguns modificáveis e outros não. Dentre os primeiros, incluímos a hipertensão, diabetes mellitus, dislipidemias, presença de cardiopatia, aterosclerose de artérias cerebrais, aorta proximal ou das carótidas, tabagismo e aumento da viscosidade sanguínea. Recentemente alguns fatores alimentares também têm sido identificados. Os

imutáveis incluem idade, sexo, raça, história familiar de AVE ou de isquemia cerebral transitória (GUIMARÃES, 1999).

A hipertensão representa o principal fator de risco, tanto por sua elevada prevalência quanto por sua relação causal muito forte com a doença cerebrovascular. Desde a implantação do Programa Nacional de Educação em Hipertensão nos Estados Unidos, em 1972, houve um declínio na mortalidade por AVE de 60% até 1991. Esses benefícios foram mais relevantes em mulheres com 50 ou mais anos de idade e também estão associados a uma redução da taxa de incapacitação em idosos (MINISTÉRIO DA SAÚDE - CDC, 1993).

O diabetes mellitus é um grande fator de risco de doença micro e macrovascular. O controle da glicemia favorece a prevenção da doença microvascular, enquanto o controle da aterosclerose favorece a prevenção da doença macrovascular (GUIMARÃES, 1999). Pacientes diabéticos têm duas vezes mais risco de AVE, sendo que estes apresentam maior mortalidade e mais lenta recuperação. Estudos demonstraram que o estresse oxidativo está aumentado no quadro de diabetes, tanto em modelo experimental quanto em humanos, o que leva ao aumento da produção de neurotransmissores excitatórios e a perda da homeostase iônica. Somando-se a isto, a grande quantidade de lipídios poliinsaturados nas membranas celulares do cérebro, altamente sensível ao dano oxidativo, podem ser modificados por ação dos radicais livres. O dano peroxidativo com neurodegeneração se propaga através da consecutiva produção de radicais livres por um efeito cascata, onde cada único radical livre leva a formação de 2 novos e assim sucessivamente. Portanto eles poderiam estar intimamente ligados à lesão ao sistema nervoso central durante a isquemia. (ARAGNO et al, 2000).

Tratamentos efetivos, relativos ao acidente vascular encefálico, são limitados e muitos sobreviventes requerem uma reabilitação prolongada e cuidados crônicos (LEE et al, 2003). Contudo, a terapia com antioxidantes normalizaria a função endotelial, teria efeito benéfico na regulação da agregação plaquetária, modularia a pressão arterial, protegeria o LDL da oxidação e reduziria a formação de placas ateroscleróticas. Assim, a utilização de agentes antioxidantes pode ser uma estratégia promissora na prevenção do AVE (ARAGNO et al, 2000).

### 2.2.1 – NIACINA

A niacina ou vitamina B3 é o termo genérico para nicotinamida (Nam) e ácido nicotínico. O ácido nicotínico pode ser conhecido como ácido piridina-3-carboxílico e a nicotinamida como niacinamida. No primeiro caso a nomenclatura deriva da substituição do anel piridina na posição 3 por um grupamento ácido carboxílico, e no segundo caso a substituição refere-se a uma carboxamida (IKEDA, NEGISHI, YAMORI, 2003). Em ambos os casos tratam-se de compostos hidrossolúveis e são encontradas em todas as células do corpo sob a forma das coenzimas NAD e dinucleotídeo nicotinamida adenina fosfato (NADP), coenzimas tais que atuam no metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas, e na cadeia respiratória (NAMAZI, 2003).

Nicotinamida, possui uma gama de efeitos que a incluem como um agente potencial para o tratamento de diversas patologias (NAMAZI, 2003).

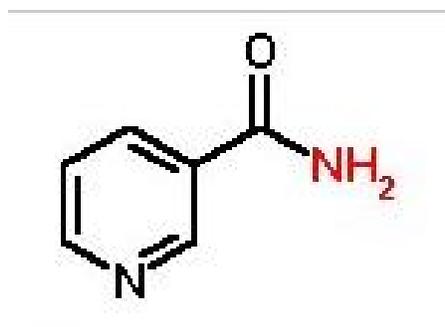


FIGURA 1: Nicotinamida

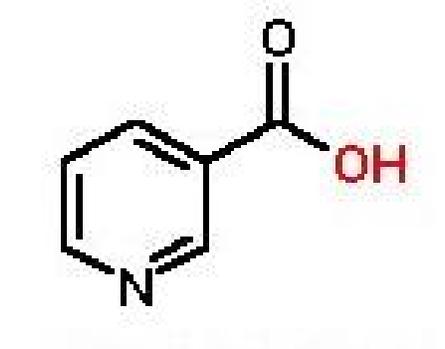


FIGURA 2: Ácido nicotínico

### 2.2.2 – ABSORÇÃO, BIOSÍNTESE E ARMAZENAMENTO

A absorção da niacina ocorre no intestino delgado por difusão facilitada, sendo então transportada no plasma em solução livre e absorvida pela maioria dos tecidos por difusão passiva. A niacina pode ser retida nos tecidos após desaminação a nicotinato e assim convertido a NAD após reação com 5-fosforibosil-pirofosfato, ATP e glutamina. O nicotinato pode também ser refosforilado a NADP (MURRAY *et al.*, 1994, p. 584).

Com relação à ingestão dietética, o organismo não obtém niacina somente através da ingestão direta, mas também através da conversão de triptofano a niacina. Uma série de estudos indicou que a niacina pode deixar de ser essencial quando a ingestão de triptofano for suficientemente alta e ocorrer conversão de cerca de 60mg deste último em 1mg de niacina (FUKUWATARI *et al.*, 2004a).

Uma vez que a niacina é um composto hidrossolúvel e não se acumula no corpo acima de seu nível de saturação, existe a necessidade de um eficiente mecanismo de excreção, sendo este processo realizado sob a forma de piridonas metiladas. Assim, uma metilação ocorre, sendo a S-adenosilmetionina a doadora de grupamento metil, e a partir deste ponto a excreção da niacina torna-se dependente da presença de metionina. A ingestão de altas doses de niacina pode afetar o metabolismo deste aminoácido, pois já foi comprovado que poderia ocorrer um aumento dos níveis plasmáticos e urinários de homocisteína em ratos (BASU *et al.*, 2002), sendo a homocisteína um fator de risco independente para a doença oclusiva arterial (FINKLESTEIN, 2000).

Segundo estudo realizado por Fukuwatari (2004b) a excreção de niacina foi considerada dose-dependente, ou seja, quanto maior a dose administrada maior a quantidade de metabólitos excretada.

### 2.2.3 – AGENTE FARMACOLÓGICO

A utilização do ácido nicotínico isoladamente ou em combinações para o tratamento de dislipidemias em pacientes de doenças coronarianas ou apenas com risco das mesmas é atualmente discutido. Riscos cardiovasculares não são preditos somente pelos altos níveis de LDL, mas também por baixos níveis de HDL e elevados níveis de triglicerídios. Estudos clínicos vêm demonstrando que a terapia com ácido nicotínico aumentaria efetivamente os valores de HDL, enquanto causaria redução de LDL e tornaria sua estrutura menos aterogênica (ITO, 2003).

McKenney (2003) descreveu que a terapia com ácido nicotínico é a única que melhora todas as anormalidades lipoprotéicas, reduzindo significativamente os níveis de LDL e triglicerídios, enquanto aumenta HDL. Assim sendo, o ácido nicotínico mostra-se como ideal no tratamento de desordens lipídicas, incluindo as adjacentes à síndrome metabólica e diabetes *mellitus*, sendo esta terapia superior à utilização de estatinas por ser aquela que acarreta maior aumento no HDL, elevando os níveis de 15 a 35%.

O ácido nicotínico reduz valores de LDL através da diminuição da mobilização de ácidos graxos livres provenientes do tecido adiposo (CARLSON et al, 1968), pela redução da síntese de VLDL que se dá através da inibição da apolipoproteína (b) (CAPUZZI et al, 2000) e pelo aumento do catabolismo do VLDL (GRUNDY et al, 1981).

O aumento de HDL circulante se deve ao aumento de absorção de colesterol trazido pelo HDL ao fígado e a redução do catabolismo da apolipoproteína A (apo A)

durante o trânsito hepático. Assim, o HDL rico em apo A e pobre em colesterol é reenviado a circulação aumentando o fluxo de colesterol das células periféricas a circulação reversa. Tamaña importância da apo A é dividida entre a integridade funcional e estrutural da partícula de HDL (MCKENNEY, 2004).

Sob o ponto de vista neurológico, a niacina parece possuir marcante papel neuroprotetor em ratos. A suplementação com nicotinamida apresenta excelentes resultados no combate ao estresse oxidativo ocorrido após a isquemia cerebral, é precursor do NAD que é fonte de energia em curto prazo para os neurônios, assim como é inibidor da enzima poli(adp-ribose)polimerase que é responsável pela necrose e apoptose neuronal (YANG et al, 2002).

Após a indução de isquemia através da oclusão da artéria cerebral média e reperfusão, há um acúmulo de espécies reativas de oxigênio tais como peróxido de hidrogênio, hidroxila e peróxinitrito (MORIMOTO et al, 1996). A nicotinamida parece combater tais radicais por possuir capacidade de seqüestrar radicais livres e neutralizá-los (KOLB & BURKART, 1999).

Testes neurológicos foram realizados em ratos WISTAR para avaliar o comprometimento das funções corticais. Nos testes motores e sensoriais houve uma melhora de performance nos animais, porém o aumento da dose de 500mg/kg para 1000mg/kg ou 1500mg/kg não apresentou diferença nos resultados dos testes (MAYNARD et al, 2001). No tocante a aprendizado e memória, a nicotinamida parece reduzir o dano causado pela lesão por exposição a metil-fenil-tetrahidropiridina. Houve melhora em ambos os parâmetros quando empregada a dose de 500mg/kg (YANG et al, 2004), sendo que em animais hígidos não houve melhora no aprendizado e memória e na dose de 1000mg/kg, houve uma redução devido a um possível efeito sedativo (KOPPEN et al 1996).

Diversos estudos foram realizados empregando a nicotinamida sob a forma intraperitoneal em diversos tempos e doses. YANG e colaboradores (2002) realizaram uma curva dose-efeito, assim como uma tempo-efeito, e a partir daí foi estabelecida a dose ótima como sendo de 500mg/kg e o tempo ótimo como sendo até 60 minutos após a reperfusão por desobstrução da artéria cerebral média. Houve um aumento da circulação cerebral, redução da zona de penumbra e redução da área infartada nos ratos submetidos a tal procedimento.

Em uma recente meta-análise, abrangendo publicações de 1969 a junho de 2003, foram identificadas 157 publicações apresentando as palavras chave “nicotinamide” ou “vitamin B3” e “stroke” ou “ischemia”. Destes trabalhos foram selecionados 14 artigos, que levaram a concluir que há uma robusta literatura comprovando o efeito neuroprotetor na nicotinamida em modelos experimentais. Por outro lado, uma meta análise somente pode avaliar dados publicados e, grupos que não encontraram efeito, podem não ter sido enviados para publicação levando assim a um “viés de publicação” (MACLEOD et al, 2004) .

### **2.3 – O MODELO EXPERIMENTAL**

Durante décadas, animais têm sido usados para entender as doenças de humanos, tanto de uma perspectiva fisiopatológica quanto da administração de drogas. O rato é um animal frequentemente utilizado na pesquisa sobre sistema cardiovascular (BATRA & RAKUSAN 1992, CLEUTJENS et al 1995, KAJSTURA et al 1996, KALINSKI et al 1998). Há semelhança morfológica e funcional entre o sistema cardiovascular do rato e o de outros mamíferos, inclusive o homem (CAMPBELL et al 1989).

Em 1959 foram isolados ratos de uma linhagem normotensa WISTAR KYOTO (WKY) e então, a partir destes, em 1971 foi estabelecida a linhagem SHR (Spontaneously Hypertensive Rats) para o estudo da hipertensão. Tendo origem nesta segunda linhagem foi isolado um novo grupo que em 1973 daria origem a linhagem Spontaneously Hypertensive Rats – stroke prone (SHR-sp), que é um modelo animal de doença cerebrovascular. (OKAMOTO et al, 1974).

Há o aparecimento de AVE espontâneo na linhagem SHR-sp e os animais apresentam uma sensibilidade aumentada a isquemia e um volume de infarto cerebral aumentado quando comparados com controles WKY. Uma das razões apontadas foi a reduzida circulação colateral cerebral entre a artéria cerebral média e anterior e as artérias posteriores, que se deveria ao reduzido diâmetro das mesmas e a falta de capacidade de dilatarem-se. Somando-se a este ponto, os valores mais elevados de glutamato encontrados nos SHR-sp quando comparados aos WKY, parecem apontar para uma maior sensibilidade ao AVE (CARSWELL et al, 1999).

Somando-se a histologia favorável ao AVE, os SHR-sp machos apresentam valores pressóricos próximos a  $250\pm 15$  mmHg na 8ª semana de vida e  $300\pm 15$  mmHg na 18ª semana, enquanto os SHR somente encontram-se entre  $180\pm 10$  mmHg na 12ª semana e os WKY atingem  $140\pm 5$  mmHg desde a 6ª até a 30ª semana de vida (VIANNA LM, 1992; FUKUDA et al, 2004).

### **3 – OBJETIVOS**

#### **3.1 – OBJETIVO GERAL**

- Avaliar os efeitos da suplementação suprafisiológica de nicotinamida em SHR-sp

#### **3.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

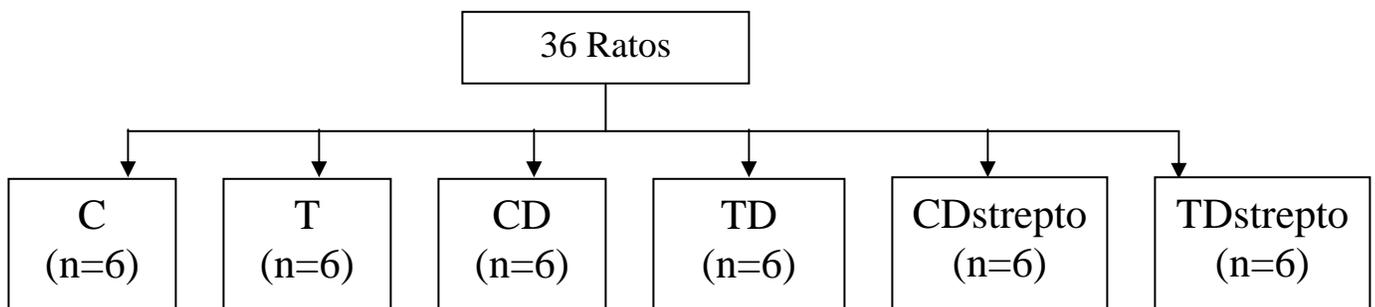
- Avaliar os efeitos da suplementação suprafisiológica de nicotinamida nos parâmetros biológicos gerais
- Avaliar os efeitos da suplementação suprafisiológica de nicotinamida na pressão arterial sistólica
- Avaliar os efeitos da suplementação suprafisiológica de nicotinamida nos níveis de colesterol total e frações
- Avaliar os efeitos da suplementação suprafisiológica de nicotinamida na glicemia
- Avaliar os efeitos da suplementação suprafisiológica de nicotinamida nos parâmetros neurológicos gerais
- Avaliar o efeito da suplementação suprafisiológica de nicotinamida sobre a longevidade.

## 4- METODOLOGIA

### 4.1 – ANIMAIS

Para realização deste estudo experimental foram utilizados 36 ratos machos da linhagem SHR-sp de aproximadamente 6 semanas, pesando entre  $133,29 \pm 5,66$ g. Tais animais foram obtidos de colônias mantidas pelo Biotério da Escola de Nutrição da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro. Os animais foram divididos em seis grupos:

- Controle (C)
- Tratado (T)
- Controle + dieta hipercalórica hiperlipídica (CD)
- Tratado + dieta hipercalórica hiperlipídica (TD)
- Tratado + dieta hipercalórica hiperlipídica + diabetes (TDstrepto)
- Controle + dieta hipercalórica hiperlipídica + diabetes (CDstrepto)



Todos os procedimentos foram realizados de acordo com “Principles of Laboratory Animal Care” (NIH publication nº 85-23 revised 1985). Os protocolos experimentais utilizados neste estudo foram aprovados pelo Câmara de Pesquisa do Departamento de Pesquisa da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro e pelo CNPq. Os ensaios foram realizados nos Laboratório de Investigação de Doenças Crônicas Degenerativas (LINDCD) da referida universidade.

#### 4.2 – CONDIÇÕES AMBIENTAIS

Os animais foram mantidos em biotério com condições controladas de luminosidade (ciclo claro-escuro/12hs), temperatura ( $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), umidade ( $60\pm 10\%$ ) e ciclo de exaustão de ar (15 min/h), em gaiolas metabólicas individuais.

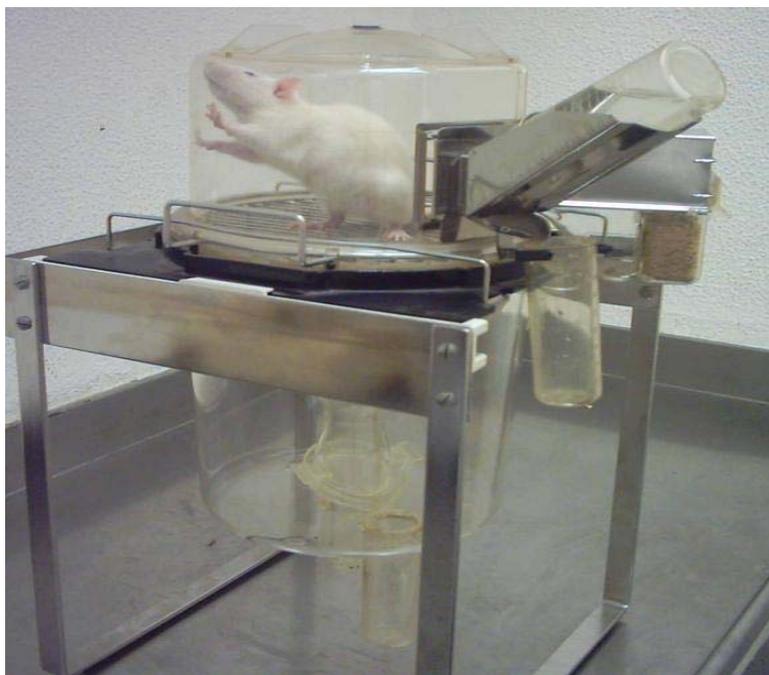


Figura 3. Gaiola metabólica

### 4.3 – DIETA E SUPLEMENTAÇÃO

Os animais dos grupos T e C receberam ração Nuvilab da Nuvital<sup>®</sup> *ad libitum*, enquanto os animais dos grupos CD, TD, CDstrepto e TDstrepto receberam ração hipercalórica hiperlipídica (HCHL) *ad libitum*. Ambas dietas foram administradas desde o período basal. Todos animais receberam água *ad libitum*. Após um período basal de 10 dias os grupos T, TD e TDstrepto foram submetidos à suplementação com nicotinamida ou veículo por gavagem oral via sonda de polietileno PE 190. Foi realizada a suplementação dos grupos SHR-sp tratados por 28 dias, com administração de nicotinamida (Sigma - St. Louis, MO) na dose de 100mg diluída em veículo água 0,3ml. Os animais dos grupos C, CD e CDstrepto foram suplementados apenas com água .

Componente	Dieta HC HL	Padrão
Ração comercial (g)	60,0	100,0
Leite condensado (g)	15,0	-
Gordura hidrogenada (g)	25,0	-
Proteína (%)	15,0	23,0
Gordura (%)	30,0	6,0
Carboidrato (%)	55,0	71,0
Energia (Kj/g)	23,0	18,0
Energia (Kcal/g)	4,90	3,50

Tabela 1: Descrição das dietas



Figura 4. Procedimento de gavagem

#### **4.4 – ANÁLISE DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS GERAIS**

Diariamente os animais foram submetidos a exame físico, seguindo protocolo do laboratório LINDCD (VIANNA LM, 2006) para detecção da ocorrência de sinais de toxicidade ou de interação entre nutrientes. Posteriormente foram avaliados os parâmetros biológicos gerais: ingesta de ração, água, diurese, fezes e peso corporal.

#### **4.5 – ANÁLISE DE PARÂMETROS NEUROLÓGICOS**

Testes neurológicos foram realizados em todos os animais no decorrer do experimento. A bateria consistia de testes já validados na literatura científica (I) Teste Postural de Bederson et al (1986) e (II) teste de resposta desenvolvido por De Ryck et al (1989). Com tais testes foram avaliados a postura, a resposta a estímulos visuais, táteis e proprioceptivos e a resposta sensório-motora.

#### **4.6 – INDUÇÃO DO DIABETES MELLITUS**

Os animais do grupo CDstrepto e TDstrepto receberam uma dose de 100mg/kg de estreptozotocina (S-130 Sigma, St. Louis, MO) dissolvida em tampão citrato 0,1mol/l, pH 4.4, injetado intraperitonealmente. A administração da droga foi realizada no início do período basal. Após 7 dias, os animais diabéticos desenvolveram glicemia superior a 300mg/dl sendo esta aferida utilizando-se o aparelho Accu-check Advantage (Roche®).

#### **4.7 – ANÁLISE DE COLESTEROL TOTAL E FRAÇÕES**

O material utilizado para a dosagem de colesterol e suas frações foi o soro, obtido a partir da centrifugação do sangue colhido em tubo descartável sem anticoagulante durante o sacrifício do animal. O sangue centrifugado em centrífuga CELM modelo Kombat (aferição e calibração Control-Lab) a 3500 rpm por 15 minutos. O soro, separado dos componentes celulares pela centrifugação, foi retirado do tubo primário por pipetagem com ponteiros descartáveis e acondicionado em tubos secundários, identificados e estéreis. O soro foi conservado em refrigerador com temperatura controlada de 8°C. O colesterol total, LDL, HDL e triglicerídios foram aferidos através de um ensaio enzimático (Biolab-Mérieux). A concentração foi expressa em mg/dl.

#### 4.8 – PLETISMOGRAFIA

A pressão sistólica foi aferida através de pletismógrafo (Bio-oficina<sup>®</sup>, Br), mensurada duas vezes na semana, seguindo metodologia de Magaldi e cols. modificada por Vianna e cols. em 1992 apresentada de modo resumido a seguir: a artéria caudal posicionada no pletismógrafo, sofre uma pressão externa que colaba suas paredes cessando o fluxo sanguíneo; ao descomprimir lentamente o manguito, a pressão sanguínea atinge um nível suficiente para forçar um jato de sangue que será registrado como pressão sistólica, e que será lida na coluna líquida do aparelho que se modificou mediante a alteração de volume. A mensuração da pressão sanguínea é feita duas vezes por semana mantendo-se sempre o mesmo horário para evitar alterações do ritmo circadiano. A pletismografia foi realizada no período basal e ao longo do experimento.

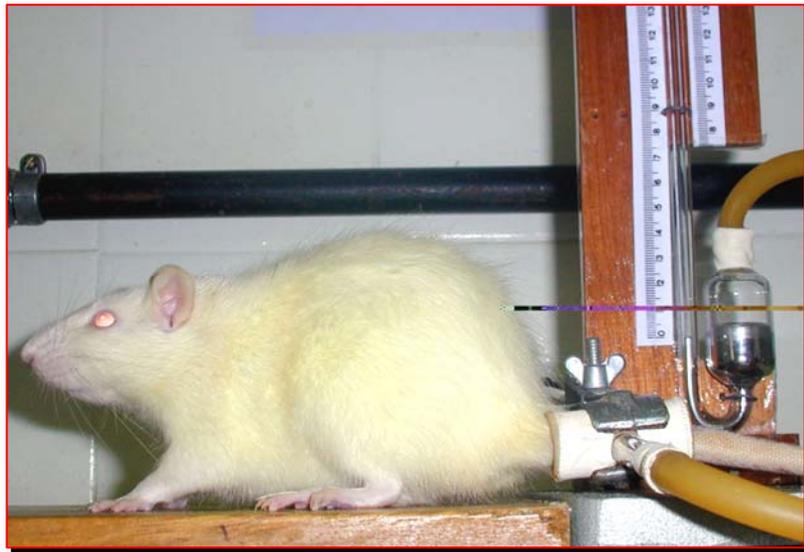


Figura 5. Pletismografia

#### **4.9 – ANÁLISE DA GLICEMIA**

Semanalmente a glicemia de todos animais foi aferida através de punção sangüínea da artéria caudal utilizando o aparelho Accu-check Advantage (Roche®).

#### **4.10 – SACRIFÍCIO E COLETA DE MATERIAL**

Os animais foram anestesiados via indução de coma profundo por anestesia inalatória com éter sulfúrico e administração de barbitúrico (tiopental sódico) via intraperitonal com doses superiores a 25 mg/kg. O animal anestesiado foi então fixado através das patas em posição dorsal. A via de acesso cirúrgico utilizada foi uma cervico–esterno–laparotomia com ampla abertura das cavidades torácicas e abdominal. Realizou-se a dissecação para obter acesso até os grandes vasos abdominais, colheita de 05 ml de sangue por punção cardíaca para dosagem de lipídeos plasmáticos e morte por exangüinação do animal através da secção da aorta.

#### **4.11 – ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Foi realizado ANOVA Two Way para identificar significância estatística entre os diferentes tratamentos considerando  $p < 0,05$  como significância.

## **5 – RESULTADOS**

### **5.1 – PARÂMETROS BIOLÓGICOS GERAIS**

A suplementação de nicotinamida não provocou reação de vermelhidão (flushing), prurido ou sinais sugestivos de hepatotoxicidade.

Nos animais submetidos a dieta HCHL houve redução da ingestão de ração e hídrica. O grupo que foi submetido a indução do diabetes apresentou as alterações naturalmente esperadas para o quadro: poliúria, polidipsia e redução de peso porém não apresentaram polifagia possivelmente por estarem recebendo dieta HCHL.

### **5.2 – PARÂMETROS NEUROLÓGICOS**

Os testes neurológicos para avaliação de postura, resposta a estímulos visuais, táteis e proprioceptivos e resposta sensorio-motora não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

### **5.3 – LONGEVIDADE**

No tocante a longevidade não houve qualquer diferença entre o grupo tratado (T) e o controle (C). A expectativa de vida dos animais girou foi em média de  $376 \pm 21$  dias.

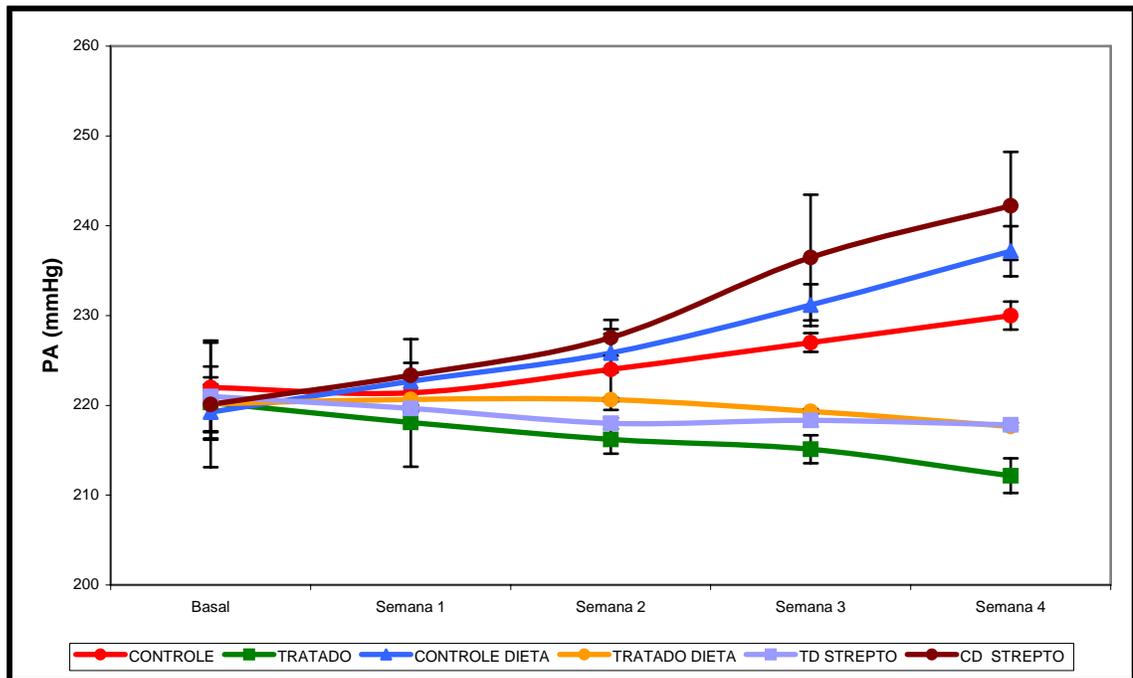
#### 5.4 – PRESSÃO ARTERIAL

O tratamento dos resultados com o emprego da análise de variância (ANOVA) mostrou que houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ).

O grupo SHR-sp tratado com nicotinamida (T) mostrou uma redução significativa na pressão arterial sistólica quando comparado com o grupo controle (C) ( $212,17 \pm 1,93$  vs  $230,98 \pm 1,56$ mmHg;  $p < 0,05$ ).

O grupo que recebeu dieta hipercalórica hiperlipídica (CD) sem a suplementação de nicotinamida teve um aumento dos valores pressóricos quando comparado ao grupo controle (C) ( $237,17 \pm 2,79$  vs  $230,98 \pm 1,56$ mmHg;  $p < 0,05$ ). Entretanto, a suplementação com nicotinamida por quatro semanas leva a um decréscimo destes valores de  $237,17 \pm 2,79$  para  $217,67 \pm 0,36$ mmHg ( $p < 0,05$ ).

O grupo que recebeu a dieta HCHL e estreptozotocina (CDstrepto) apresentou elevação da pressão arterial sistólica até valores superiores aos do grupo CD ( $242,24 \pm 3,47$  vs  $237,17 \pm 2,79$ mmHg,  $P < 0,05$ ). Por outro lado, no grupo TDstrepto a suplementação com nicotinamida foi eficaz na redução da hipertensão arterial quando comparado ao CDstrepto ( $217,83 \pm 0,24$  vs  $242,24 \pm 3,47$ mmHg,  $P < 0,05$ ).



Valores representam  $X \pm DP$  de 6 animais,  $P < 0,05$ .

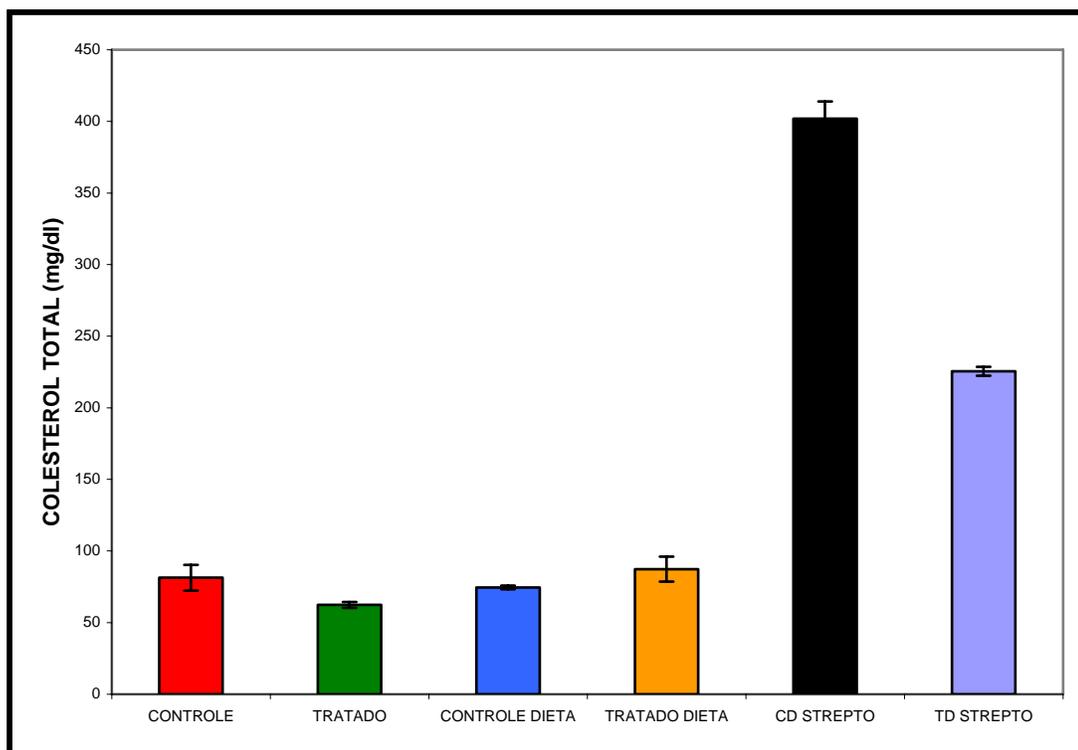
Gráfico 1: Pressão arterial sistólica

## 5.5 – COLESTEROL TOTAL E FRAÇÕES

A nicotinamida mostrou-se eficaz na redução dos valores de colesterol total nos grupos suplementados. O grupo tratado dieta (TD) apresentou uma redução de cerca de 25% quando comparado ao grupo controle dieta (CD) ( $62,33 \pm 2,08$  vs  $81,33 \pm 9,02$ mg/dl,  $p < 0,05$ ), merecendo destaque, também, a discreta elevação dos valores de HDL ( $32,96 \pm 1,39$  vs  $27,00 \pm 7,07$ mg/dl,  $p < 0,05$ ) e a importante redução dos valores de LDL em cerca de 60% ( $15,23 \pm 2,43$  vs  $45,35 \pm 5,28$ mg/dl,  $p < 0,05$ ).

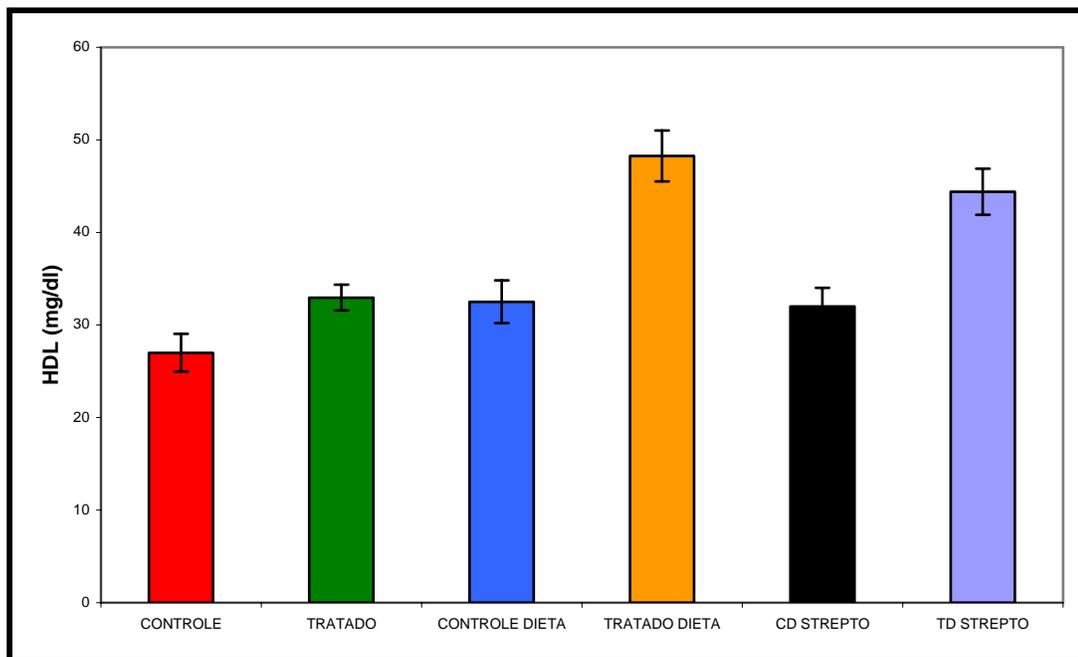
Nos animais que receberam dieta hipercalórica hiperlipídica a suplementação não levou a uma redução nos valores de colesterol total e sim a um aumento dos mesmos ( $87,25 \pm 8,66$  vs  $74,50 \pm 1,29$ mg/dl,  $p < 0,05$ ). Por outro lado, o aumento do HDL foi maior que o encontrado nos outros grupos ( $48,25 \pm 2,75$  vs  $32,5 \pm 4,25$ mg/dl,  $p < 0,05$ ) e a redução dos valores de LDL foi quase tão acentuada quanto a encontrada nos grupos que não receberam dieta HCHL ( $17,50 \pm 7,59$  vs  $37,50 \pm 3,54$ mg/dl,  $p < 0,05$ ).

Nos grupos em que foi induzido o diabetes, encontramos a maior redução de colesterol total e LDL. O grupo CDstrepto atingiu valores superiores a 400mg/dl de colesterol total e o tratamento com a vitamina levou a uma redução próxima a 50% no grupo TDstrepto ( $402,45 \pm 12,37$  vs  $225,50 \pm 3,11$  mg/dl,  $p < 0,05$ ). A suplementação também acarretou numa redução do LDL plasmático ( vs  $119,23 \pm 4,32$  mg/dl,  $p < 0,05$ ) e numa elevação do HDL ( $32,70 \pm 1,37$  vs  $44,38 \pm 2,49$  mg/dl,  $p < 0,05$ ).



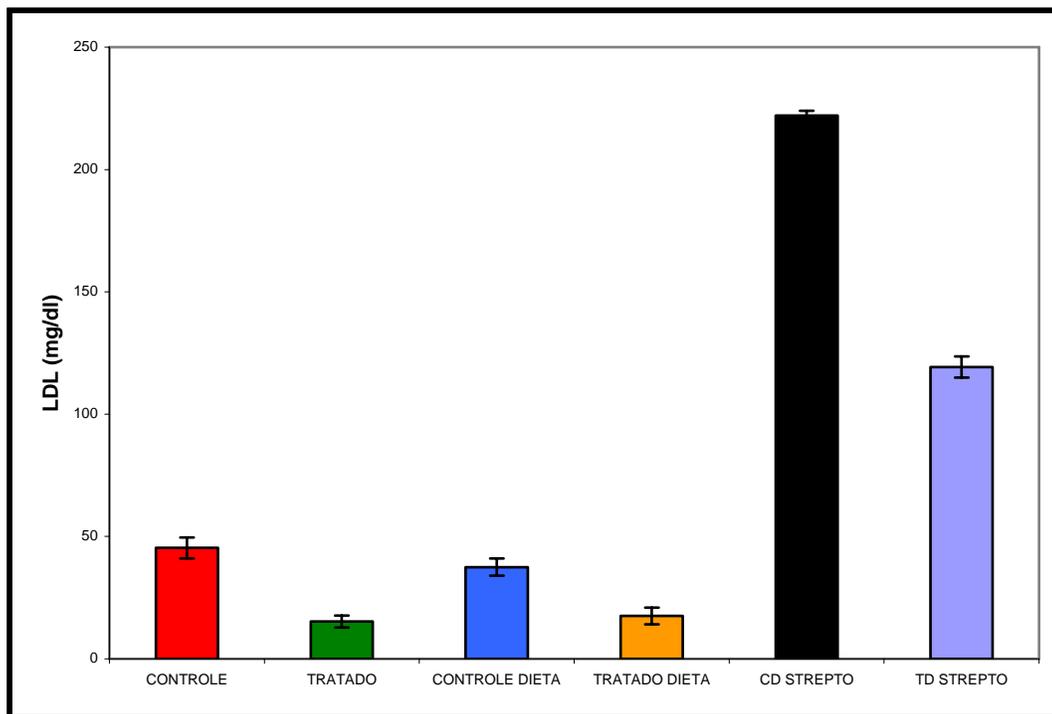
Valores representam  $X \pm DP$  de 6 animais,  $P < 0,05$ .

Gráfico 2: Colesterol total – semana 4



Valores representam  $X \pm DP$  de 6 animais,  $P < 0,05$ .

Gráfico 3: Colesterol HDL – semana 4



Valores representam  $X \pm DP$  de 6 animais,  $P < 0,05$ .

Gráfico 4: Colesterol LDL – semana 4

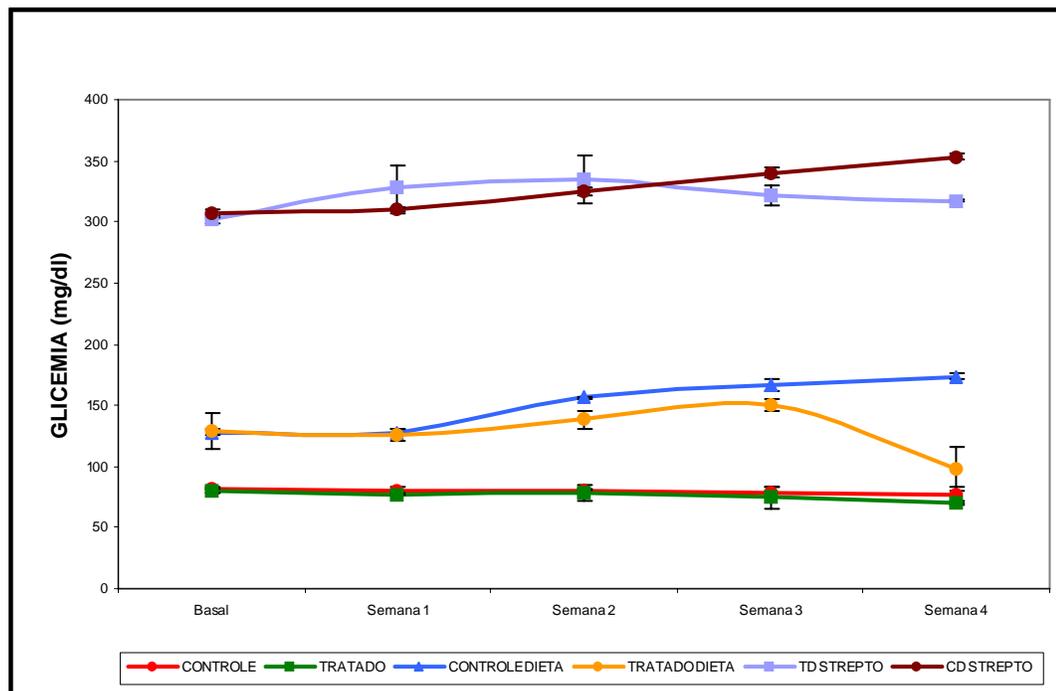
## 5.6 – METABOLISMO DA GLICOSE

A nicotinamida foi igualmente eficaz no controle da glicemia em todos os grupos. O teste estatístico ANOVA Two Way comprovou a diferença entre os grupos e os períodos de ensaio ( $p < 0,05$ ).

Quando comparamos o tratado (T) e o controle (C), encontramos uma diferença significativa somente na última semana de tratamento ( $70,50 \pm 2,08$  vs  $77,00 \pm 6,53$ mg/dl,  $p < 0,05$ ).

A nicotinamida também apontou um efeito benéfico nas alterações causadas pela dieta HCHL. Apesar de uma hiperglicemia nas duas primeiras semanas de tratamento, os valores ao final das quatro semanas do experimento foram significativos com o grupo controle dieta apresentando valores de  $173,50 \pm 2,12$  e o grupo tratado dieta com valores de  $98,00 \pm 37,82$ mg/dl ( $p < 0,05$ ).

O grupo diabético também apresentou resultados significativos quando comparado a evolução da glicemia no decorrer da suplementação ( $347,50 \pm 19,09$  VS  $317,50 \pm 0,71$ ,  $p < 0,05$ ).



Valores representam  $X \pm DP$  de 6 animais,  $P < 0,05$ .

Gráfico 5: Glicemia

## 6 – DISCUSSÃO

Estudos recentes vêm sugerindo que as vitaminas possam ter um papel importante no tratamento da hipertensão. Estes nutrientes podem atuar diretamente restabelecendo a função endotelial lesada em certos tipos de hipertensão (BORGES et al; 1999 & 2002) ou na redução da formação de radicais livres, os quais irão ocasionar lesões através da oxidação de membranas celulares (COSTA & VIANNA; 2005, PEREZ & VIANNA; 2005, SANTOS & VIANNA; 2005). A própria nicotinamida já foi apontada como um nutriente antioxidante, sendo capaz de reduzir a peroxidação lipídica causada por 1,2-dicloroetano, reduzindo a formação de glutatona e a ativação das enzimas superoxidase, catalase e glutatona peroxidase (IANITS´KA et al; 2005).

Em ensaio prévio com ratos Wistar normotensos o tratamento com nicotinamida reduziu pressão arterial e glicemia (CASTRO RB, VIANNA LM, MURAD LB, 2006).

No presente ensaio a suplementação com nicotinamida mostrou-se bastante eficaz no controle da pressão arterial em todos os grupos, incluindo aqueles que foram submetidos à indução de obesidade e diabetes. A dieta HCHL mais uma vez agravou a hipertensão arterial conforme observamos em achados prévios de nosso laboratório. Acredita-se que essa dieta possa aumentar as prostaglandinas E1 e E3 bem como os ácidos graxos trans circulantes na corrente sanguínea e reduzir a prostaglandina E2 (SANTOS & VIANNA; in press).

Concomitantemente foi observado importante modulação do perfil lipídico pela ação do ácido nicotínico. Em 2004 Gaudineau & Auclair (2004) afirmam que o ácido nicotínico é eficaz em reduzir colesterol total, LDL e triglicéridios, enquanto

aumenta valores de HDL, e também apontam a nicotinamida como um possível neuroprotetor. Na realidade no que se refere ao efeito da nicotinamida sobre os lipídios séricos o presente trabalho foi de grande contribuição uma vez que não foram encontrados na literatura ensaios experimentais com nicotinamida que avaliassem valores de colesterol sérico e lipoproteínas. Por outro lado, como a nicotinamida é um subproduto do metabolismo do ácido nicotínico (PIEPHO RW 2000), resultados similares poderiam ser esperados.

Nossos estudos estão de acordo com achados na literatura sobre a ação do ácido nicotínico (MCKENNEY, 2003), houve uma redução significativa de LDL colesterol nos grupos tratados com nicotinamida e houve um aumento significativo nos valores de HDL colesterol. Porém no que diz respeito aos valores de colesterol total, no grupo que recebeu a dieta HCHL e a suplementação (TD) houve um aumento quando comparado ao grupo controle dieta (CD), sendo estes valores considerados significativos ( $87,25 \pm 8,66$  vs  $74,50 \pm 1,29$ mg/dl,  $p < 0,05$ ). Tal achado deve-se a um aumento de HDL maior e uma redução de LDL levemente menos eficaz que nos outros grupos.

Há uma redução da mobilização de lipídios do tecido adiposo (CARLSON et al; 1968), o que acarreta na diminuição dos triglicerídios plasmáticos e da síntese de menor quantidade e de menores partículas de VLDL (GRUNDY et al; 1981). Também há uma inibição da síntese de Apo B, que é necessária para a formação de partículas de VLDL, e um aumento do catabolismo das VLDL (CAPUZZI et al; 2000). Tais efeitos no metabolismo de VLDL e triglicerídios acarretam na redução do LDL colesterol.

No tocante ao HDL, o ácido nicotínico leva a uma redução do catabolismo hepático devido ao aumento da absorção no fígado do colesterol carregado pelo HDL

e uma diminuição da extração da Apo A-I, assim como um aumento da recirculação de partículas de HDL para células periféricas transportando colesterol adicional ao fígado (PIEPHO RW; 2000).

No metabolismo da glicose encontramos possíveis efeitos da nicotinamida em todos os grupos tratados, sendo tal fato demonstrado através de testes estatísticos. Tal ação hipoglicemiante pode estar relacionada com o efeito protetor que a nicotinamida é capaz de exercer quando administrada anteriormente a estreptozotocina. Ela está ligada a uma redução do poder citotóxico da estreptozotocina nas células das ilhotas de Langerhans, prevenindo uma rápida e irreversível necrose (JUNOD et al, 1969). Tal efeito está fortemente associado ao desenvolvimento de um novo modelo experimental de DM, onde há somente uma redução dos estoques de insulina pancreáticos tornando-a mais similar a DM tipo 2 do que os outros modelos anteriormente propostos (MASIELLO et al, 1998).

Em ratos knock-out para o gene da PARP há uma resistência ao dano citotóxico causado pela estreptozotocina, claramente implicando a ativação da PARP no dano as células  $\beta$  e na intolerância a glicose (MASUTANI et al, 1999). Sendo a nicotinamida um forte inibidor da PARP (SCHALLER, 2005) poderia haver uma associação entre estes dois fatores justificando assim a redução da glicemia encontrada nos grupos estudados.

## 7. CONCLUSÃO

A suplementação com nicotinamida teve efeito hipotensor no modelo SHR-sp em todos os grupos tratados. Atenuou a hipertensão arterial no modelo diabético e também reduziu o agravamento da hipertensão induzido pela dieta HCHL.

A nicotinamida possui efeito hipoglicemiante. A suplementação reduziu a glicemia no grupo tratado (T), no grupo tratado dieta diabético (TDStrepto) e no grupo tratado dieta (TD).

Tal tratamento foi eficaz na redução do colesterol total e LDL e no aumento do HDL do grupo tratado e diabético. No grupo tratado dieta foram encontrados resultados positivos de aumento de HDL e redução de LDL.

## Referências Bibliográficas

ARAGNO M; PAROLA S; BRIGNARDELLO E; MAURO A; TAMAGNO E; MANTI R; DANNI O; BOCCUZZI G. Dehydroepiandrosterone prevents oxidative injury induced by transient ischemia/reperfusion in the brain of diabetic rats. *Diabetes* 2000; 49(11): 1924-1931.

BASU TK; MAKHANI N; SEDGWICK. Niacin (nicotinic acid) in non-physiological doses causes hyperhomocysteinaemia in Sprague-Dawley rats. *Br J Nutr* 2002 87:115-119.

BATRA S, RAKUSAN K. Capillary length, tortuosity, and spacing in rat myocardium during cardiac cycle. *Am J Physiol* 1992; 263: H1369-1376.

BEDERSON JB, PITTS LH, TSUJI M, NISHIMURA MC, DAVIS RL, BARTKOWSKI H. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke* 1986;17: 472-476.

BORGES AC, FERES T, VIANNA LM, PAIVA TB. Cholecalciferol treatment restores the relaxant responses of spontaneously hypertensive rat arteries to bradykinin. *Phatophysiology*, 2002; 8 (4): 263 – 268.

BORGES AC, FERES T, VIANNA LM, PAIVA TB. Effect of cholecalciferol treatment on the relaxant responses of spontaneously hypertensive rat arteries to acetylcholine. *Hypertension*, 1999; 34 (4 Pt 2): 897 – 901.

CAMPBELL SE, RAKUSAN K, GERDES AM. Change in cardiac myocyte size distribution in aortic-constricted neonatal rats. *Basic Res Cardiol* 1989; 84: 247-258.

CAPUZZI DM; MORGAN JM; BRUSCO OA jr; INTENZO CM. Niacin dosing: Relationship to benefits and adverse effects. *Curr Atheroscler Rep* 2000; 2(1): 64-71.

CARLSON LA; ORO L; OSTMAN J. Effect of a single dose of nicotinic acid on plasma lipids in patients hyperlipoproteinemia. *Acta Med Scand* 1968; 183: 457-465.

CARLSWELL HVO; ANDERSON NH; CLARK JS; GRAHAM D; JEFFS B; DOMINIZACK AF; MACRAE M. Genetic and gender influences on sensitivity to focal cerebral ischemia in the Stroke-prone Spontaneously Hypertensive Rat. *Hypertension* 1999; 33: 681-685.

CASTRO RB, MURAD LB, VIANNA LM. Efeitos da suplementação suprafisiológica de nicotinamida na pressão arterial sistólica e na glicemia de ratos Wistar. *Nutrição e Metabólica*. In press.

CAVALHEIRO EA. As doenças do cérebro. *Rev Cien Hoje* 1993; 16: 26-33.

CHOI DW. Glutamate neurotoxicity in cortical cell culture is calcium dependent. *Neurosci Lett* 1985; 58(3): 293-297.

CLEUTJENS JP, VERLUYTEN MJ, SMITHS JF, DAEMEN MJ. Collagen remodeling after myocardial infarction in the rat heart. *Am J Pathol* 1995; 147: 325-338.

COLLIDGE TA; LAMMIE GA; FLEMIG S; MULLINS JJ. The role of the renin-angiotensin in malignant vascular injury affecting the systemic and cerebral circulations. *Progress in Biophysics & Molecular Biology* 84:301-319; 2004.

COSTA VAV; VIANNA LM. Effect of alfa-tocopherol supplementation on blood pressure and lipidic profile in streptozotocin-induced diabetes mellitus in spontaneously hypertensive rats. *Clin Chim Acta* 2005; 351:101-104.

De RYCK M, REEMPTS JV, BORGERS M, WAUQUIER A, JANSSEN PAJ. Photochemical stroke model: flunarizine prevents sensorimotor deficits after neocortical infarcts in rats. *Stroke* 1989;20: 1383-1390.

FINKELSTEIN JD. Homocysteine: A history in progress. *Nutr Rev* 2000; 58: 193-204.

FUKUDA S; TSUCHIKURA S; IIDA H. Age related changes in blood pressure, hematological values, concentrations of serum biochemical constituents and weights of organs in the SHR/lzm, SHRSP/lzm and WKY/lzm. *Exp Anim* 2004; 53(1): 67-72.

FUKUWATARI T; OHTA M; KIMTJRA N; SASAKI R; SHIBATA K. Conversion rate of tryptophan to niacin in japanese women fed a purified diet conforming to the Japanese Dietary Reference Intakes. *J Nutr Sci Vitaminol* 2004(a); 50(6): 385-391.

FUKUWATARI T; WADA H; SASAKI R; SHIBATA K. Effects of excess nicotinamide administration on the urinary excretion of nicotinamide N-oxide and nicotinuric acid by rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 2004(b); 68(1): 44-50.

GAUDINEAU C; AUCLAIR K. Inhibition of human P450 enzymes by nicotinic acid and nicotinamide. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 317(3): 950-956.

GRUNDY SM; MOK HY; ZECH L; BERMAN M. Influence of nicotinic acid on metabolism of cholesterol and triglycerides. *J Lipid Res* 1981; 22:24-36.

GUIMARÃES AC. Fatores de risco e prevenção da doença cerebrovascular. *Hipertensão* 1999; 2(2): 55-56.

IANITS'KA LV, HUBS'KYI I, KUCHMEROVS'KA TM, VELYKYI MM. Effect of nicotinamide on the reactions of peroxide oxidation of biomolecules in the rat brain and erythrocytes in 1,2-dichloroethane toxic injury. *Ukr Biokhim Zh.* 2005 Jul-Aug; 77(4): 106-13.

IKEDA K.; NEGISHI H.; YAMORI Y. Antioxidant nutrients and hypoxia/ischemia brain injury in rodents. *Toxicology* 2003; 189: 55-61.

ITO M.K. Advances in the understanding and management of dyslipidemia: using niacin-based therapies. *Am J Health Syst Pharm* 2003; 60(13): 15-21.

JUNOD A; LAMBERT AE; STAUFFACHER W; RENOLD AE. Diabetogenic action of streptozotocin: Relationship to dose response. *J Clin Invest* 1969; 48:2129-2139.

KAJSTURA J, CHENG W, SARANGARAJAN R, LI P, LI B, NITAHARA JA, CHAPNICK S, REISS K, OLIVETTI G, ANVERSA P. Necrotic and apoptotic myocyte cell death in the aging heart of Fischer 344 rats. *Am J Physiol* 1996; 271: H1215-1228.

KALINSKI P, SCHUIITEMKER JH, HILKENS CM, KAPSENBERG ML: Prostaglandin E2 induces the final maturation of IL-12-deficient CD1a+CD83+ dendritic cells: the levels of IL-12 are determined during the final dendritic cell maturation and are resistant to further modulation. *J Immunol* 1998; 161: 2804-2809.

KEENAN JM; FONTAINE PL; WENZ JB; HUANG ZQ; RIPSIN CM. A randomized controlled trial of wax-matrix sustained release niacin in hypercholesterolemia. *Arch Int Med* 1991; 151:1424-1432.

KOLB H; BURKART V. Nicotinamide in type I diabetes: mechanism of action revisited. *Diabetes Care* 1999; 22(2): B16-20.

KOPPEN A; KLEIN J; SCHMIDT BH; van der STAAAY FJ; LOFFELHOLZ K. Effects of nicotinamide on central cholinergic transmission and spatial learning in rats. *Pharmacol Bioch Behav* 1996; 53(4): 783-790.

LEE RMK. Morphology of cerebral artery. *Pharmac Therapy* 66: 149-173; 1995.

LEE, CD; FOLSOM, AR; BLAIR, SN. Physical Activity and Stroke Risk : A Meta-Analysis. *Stroke* 2003; 34:2475-2482.

LOLIO CA; LAURENTI R. Trends in mortality due to cerebrovascular diseases in adults over 20 in the municipality of São Paulo, 1950-1981. *Rev Saude Publica* 1986; 20(5): 343-346.

MACLEOD MR; O'COLLINS T; HOWELLS DW; DONNAN GA. Pooling of animal experimental data reveals influence of study design and publication bias. *Stroke* 2004; 35:1203-1208.

MANKOVSKY BN; ZIEGLER D. Stroke in patients with diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev* 2004; 20(4): 268-287.

MASIELLO P; BROCA C; GROSS R; ROYE M; MANTEGUETTI M; HILLAIRE-BUYS D; NOVELLI M; RIBES G. Experimental NIDDM: Development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes* 1998; 47(2): 224-229.

MASUTANI M; SUZUKI H; KAMADA N; WATANABE M; UEDA O; NOZAKI T; JISHAGE K; WATANABE T; SUGIMOTO T; NAKAGAMA H; OCHIYA T; SUGIMURA T. Poli(adp-ribose)polimerase gene disruption conferred mice resistant to streptozotocin-induced diabetes. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96: 2301-2304.

MAYNARD KI; AYOUB IA; SHEN C. Delayed multidose treatment with nicotinamide extends the degree and duration of neuroprotection by reducing infarction and improving behavioral scores up to two weeks following transient focal cerebral ischemia in Wistar rats. *Ann NY Acad Sci* 2001; 939: 416-424.

MCKENNEY J. New perspectives on the use of niacin in the treatment of lipid disorders. *Arch Intern Med* 2004; 164(7): 697-705.

MCKENNEY J. Niacin for dyslipidemia: Considerations in product selection. *Am J Health-Syst Pharm* 2003; 60: 995-1005.

MINISTERIO DA SAÚDE – COORDENAÇÃO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES. Doenças cardiovasculares no Brasil. Brasília, SUS, 1993.

MORDES JP; BORTELL R; BLANKENHORN EP; ROSSINI AA; GREINER DL. Rat models of type 1 diabetes: genetics, environment and auto immunity. *ILAR J* 2004; 45(3): 278-291.

MORIMOTO T; GLOBUS MYT; BUSTO R; MARTINEZ E; GINSBURG MD. Simultaneous measurement of salicylate hydroxylation and glutamate release in the penumbral cortex following transient middle cerebral artery occlusion in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996; 16:92-99.

MURRAY R.K. et al. Estruturas e Função das Vitaminas Hidrossolúveis. Harper: Bioquímica. In:\_\_\_\_\_. 7ª Ed, São Paulo: Editora Atheneu, 1994, p. 584.

NAMAZI MR. Nicotinamide: A potential addition to the anti-psoriatic weaponry. *FASEB J* 2003; 17:1377-1379.

OKAMOTO K; YAMORI Y; NAGAOKA A. Establishment of the SHRSPs (SHR). *Circ Res* 1974; 34(suppl 1):I143-153.

OKAMOTO K; YAMORI Y; NAGOAKA A. Establishment of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Circ Res* 34(S1): I143-I153; 1974.

OLIVEIRA RJ. Atividade física e doença cerebrovascular. *Rev Bras Cien e Mov* 2001; 9(3): 65-78.

PEREZ SC; VIANNA LM. Favorable effects of pyridoxine and folic acid supplementation of shr-sp. *Arch Neurocienc* 2005; 10(3): 146-149.

PIEPHO RW. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of agents proven to raise high density lipoprotein cholesterol. *Am J Cardiol* 2000; 86(suppl): 35L-40.

PRINCIPLES OF LABORATORY ANIMAL CARE. NIH publication n° 85-23 revised 1985.

SANTOS RS, VIANNA LM. Dieta Hipercalórica Agrava a Hipertensão Arterial em Ratos Espontaneamente Hipertensos. *Nutrire*, in press.

SANTOS RS; VIANNA LM. Effect of cholecalciferol supplementation on blood glucose in an experimental model of type 2 diabetes mellitus in spontaneously hypertensive rats and Wistar rats. *Clin Chim Acta* 2005; 358: 146-150.

SCHALLER B. Prospects for the future: the role of free radicals in the treatment of stroke. *Free Radical Biology and Medicine. Free Rad Biol Med* 2005; 38(4): 411-425.

VIANNA LM. Efeito da administração crônica de colecalciferol a ratos espontaneamente hipertensos. Tese de doutorado apresentada na Escola Paulista de Medicina, 1992.

VIANNA LM. Manual de Nutrofisiologia Experimental. Ed.Difusão, Rio de Janeiro, 2006, in press.

YANG J; HE L; WANG J; ADAMS jr JD. Early administration of nicotinamide prevents learning and memory impairment in mice induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Pharmacol Bioch Behav* 2004; 78:179-183.

YANG J; KLAIDMAN LK; CHANG ML; KEM S; SUGAWARA T; CHAN P; ADAMS jr JD. Nicotinamide therapy protects against both necrosis and apoptosis in a stroke model. *Pharmacol Bioch Behav* 2002; 73: 901-910.

YANG J; KLAIMAN LK; CHANG ML; KEM S; SUGAWARA T; CHAN P;  
ADAMS jr JD. Nicotinamide therapy protects against both necrosis and apoptosis in  
a stroke model. *Pharmacol Bioch Behav* 2002; 73: 901-910.