

쥐의 L6 골격근 배양세포에서 Lovastatin이 지방산 산화에 미치는 영향

건국대학교 의학전문대학원 내과학교실
 김동림, 송기호, 김해림, 김숙경

Effects of Lovastatin on Free Fatty Acid Oxidation in Cultured L6 Rat Skeletal Muscle Cells

Dong-Lim Kim, Kee-Ho Song, Hae-Rim Kim, Suk-Kyeong Kim

Department of Internal Medicine, Konkuk University School of Medicine

Abstract

Background: Recent clinical studies suggest that statins improve insulin resistance and glucose metabolism in patients with metabolic syndrome and type 2 diabetes. To evaluate the possible mechanism of this action, we measured free fatty acid oxidation in cultured L6 rat skeletal muscle cell line.

Methods: Cultured L6 myotubes were treated with or without lovastatin (1, 5, 20 μ M) for 24 hours or 48 hours and palmitate oxidation was measured. We also measured protein concentration of the cells.

Results: Lovastatin increased palmitate oxidation in dose and time dependent manner in L6 myotubes (24 hr; 1 μ M 119.2 \pm 11.9% of control, 5 μ M 140.9 \pm 8.1%, 20 μ M 150 \pm 5%, $P = 0.05$ vs control, respectively, 48 hr 1 μ M 120.9 \pm 14.5%, 5 μ M 176.6 \pm 28.2%, 20 μ M 196.0 \pm 19.9%, $P < 0.01$ vs control, respectively). However, lovastatin decreased total cellular protein (24 hr: 1 μ M 89.2 \pm 6.1% of control, 5 μ M 79.3 \pm 7.6%, 20 μ M 65.4 \pm 4.2%, $P = 0.05$ vs control, respectively, 48 hr: 1 μ M 81.7 \pm 5.1%, 5 μ M 58.6 \pm 11.9%, 20 μ M 48.1 \pm 6.9%, $P < 0.01$ vs control, respectively).

Conclusion: Lovastatin increased skeletal muscle free fatty acid oxidation in L6 rat skeletal muscle cells. This would be one of the mechanisms which lovastatin improves insulin resistance. (**J Kor Diabetes Assoc 31:230~235, 2007**)

Key Words: Fatty acid oxidation, Skeletal muscle, Statins

서 론

인슐린저항성은 대사성 증후군과 제2형 당뇨병환자의 주요한 병태생리로, 이런 환자에서 골격근은 말초 인슐린 저항성을 일으키는 주요 기관이다^{1,2}. 여러 가지 요인이 인슐린저항성에 관여하나 혈액 내 유리 지방산(free fatty acid)의 증가가 골격근에서 인슐린저항성을 유발하는데 중요한 역할을 한다고 알려져 있다³. 혈중 고농도의 유리 지방산은 탄수화물의 산화를 감소시키고 당의 수송과 인산화를 억제하며, 결국 당 합성을 저해한다³. 골격근에서 지방은 주로 산화를 통해 소실되는데, 실제로, 비만하거나 당뇨병환자에서 정상인에 비해 유리지방산 산화가 감소되어 있다고 알려져 있다⁴⁻⁶.

최근에 여러 연구에서 혈액 내 유리 지방산뿐만 아니라 골격근 내 침착된 중성지방이 인슐린저항성과 관련되었다고 보고하였다^{7,8}. 그리고 혈중유리 지방산 및 골격 내 침착된 중성지방을 감소시키면 인슐린저항성이 개선된다⁹⁻¹¹.

Statin은 Hydroxymethylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase 억제제로 대사성 증후군이나 제2형 당뇨병환자의 이상지혈증 치료에 쓰이는 약제다^{12,13}. 몇몇 임상연구에서 statin이 지질 강하 효과 외에도 혈당을 감소시키고 인슐린 저항성을 개선시킨다고 보고하였다^{10,13,14}. 그러나 인슐린저항성의 주 조직인 골격근에서 statin이 어떤 영향을 미치는지에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 본 연구는 쥐 골격근 배양세포인 L6 골격근 세포를 이용하여 statin이 지방산의 산화에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

1. 세포 배양 및 약물 처리

L6 골격근 세포주는 American type culture Collection (ATCC) 에서 구입하였다. L6 근원 세포를 10% FBS를 첨가한 골격근 증식 배지(DMEM, Clonetics, San Diego, CA) 에서 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양시켰다. 배지는 매 48 시간마다 교환하였고, 7~10일 간격으로 계대 배양하였다. 세포가 약 80%의 포화상태에 도달하면 배지를 골격근세포 증식배지에서 2% FBS와 100 U/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin을 첨가한 α-MEM (Irvine Scientific, Irvin, CA)로 교환하고 4일간 분화시켰다. 분화가 끝난 후 lovastatin (Sigma Chemical, St. Louis, MO)을 에탄올에 녹여 1, 5, 20 µM의 농도가 되도록 배지에 첨가하여 24시간 또는 48시간 동안 배양하였다. Lovastatin이 없는 대조군은 동량의 에탄올을 배지에 첨가하였다. 배지 내 에탄올의 최종 농도는 0.05%를 넘지 않도록 하였다.

2. 지방산 산화 측정

각각의 시간과 농도를 달리하여 lovastatin을 처리 후 [9,10-³H] palmitate (New England Nuclear Life Science, Boston, MA)를 이용하여 지방산 산화를 측정하였다. 배지 내의 총 palmitate 의 농도는 5 mM이 되도록 하였고 95% O₂와 5% CO₂가 유지된 37°C 배양기에서 3시간 동안 세포를 배양 후 배양액 내 ³H₂O를 이용하여 지방산 산화 정도를 평가하였다. 배양액 100 µL를 채취해서 이온교환레진 (Bio-Rad, Richmond, CA)에 통과 시킨 후 0.75 mL의 물을 2회 통과시켰다. 산화된 지방산은 레진에 부착되지 않고 통

과하여 ³H₂O 형태로 나오는데, 이를 병에 수집 후 10 mL의 scintillation 용액을 넣고 scintillation counter를 이용해 측정하였다. 세포 내 지방산 산화값은 Bradford 방법으로 측정된 세포 단백질량으로 보정하였다¹⁵⁾.

3. 약물 농도에 따른 세포의 단백질 농도 측정

Palmitate 산화가 끝난 골격근 세포에서, lovastatin이 세포 단백질에 어떤 영향을 미치는지를 보기 위해 Bradford 방법으로 단백질량을 측정하였다.

4. 약물 농도에 따른 세포수의 측정

약물에 의한 단백질량의 변화가 골격근 세포의 viability에는 어떤 영향을 주는지 알아보기로, 6 well plate에 L6 골격근 세포를 배양 후 lovastatin (0, 1, 20 µM) 처리를 하였다. 배양한 세포를 phosphate buffered saline (PBS)으로 세척하고 각 well에 37°C로 데운 trypsin 500 µL를 넣었다가 30초 후 흡입하였다. 골격근 세포를 37°C 에서 5분간 다시 배양하였다. 각 well에 200 µL의 PBS와 0.4% trypan blue 50 µL를 섞은 후 hemacytometer에 떨어뜨려 광학 현미경을 이용하여 100배 배율에서 세포수를 측정하였다.

5. 통계 분석

모든 수치는 평균 ± 표준오차로 표시하였다. 통계 분석은 SPSS version 11.5 통계 패키지를 이용하였다. 대조군과 각 시간에서 약물 농도에 따른 차이 및 같은 약물 농도에서 시간에 따른 차이는 Mann-Whitney U-test를 사용하였다. P < 0.05 인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

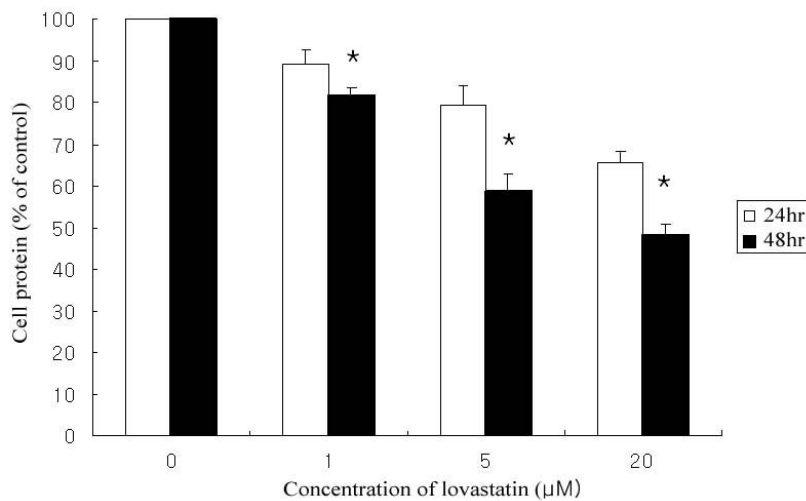


Fig. 1. Effects of lovastatin treatment on total cellular protein in cultured L6 cells. Fully differentiated myotubes were treated with lovastatin (0, 1, 5, 20 µM) for 24 hrs (n = 3) or 48 hrs (n = 8). Results were expressed as percentage of total concentration of protein in control cells for each individual set of cells. Data are mean ± SE. * P < 0.01 vs control value.

결 과

1. L6 골격근 배양 세포에서 Lovastatin이 세포 내 단 백질 농도에 미치는 영향

L6 골격근 배양 세포에서 lovastatin은 농도 및 시간에 비례하여 세포의 총 단백량을 감소시켰다(24 hr, n = 3; 1 μ M 89.2 \pm 6.1% of control, 5 μ M 79.3 \pm 7.6%, 20 μ M 65.4 \pm 4.2%, *P* = 0.05 vs control, respectively, 48 hr, n = 8, 1 μ M 81.7 \pm 5.1%, 5 μ M 58.6 \pm 11.9%, 20 μ M 48.1 \pm 6.9%, *P* < 0.01 vs control, respectively) (Fig. 1). 따라서 첫 세 검체는 24시간과 48시간 동안 약물 처리하였으나

그 외 검체는 48시간 동안만 약물을 처리 후 실험을 진행하였다.

2. Lovastatin이 L6 골격근 배양 세포수에 미치는 영향

각 약물의 농도에서 L6 골격근 배양 세포수를 측정하였다(n = 3). 세포 단백질량과 비슷하게 lovastatin 처리 후 농도 및 시간에 비례하여 세포수가 감소하는 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 보이지 않았다(24 hr: control 4.5 \pm 1.5 \times 10⁵ cells/mL, 1 μ M 86.7 \pm 2.4% of control, 20 μ M 73.8 \pm 5.9%, 48 hr: 1 μ M 80.2 \pm 6.2%, 20 μ M 52.4 \pm 3.1%, *P* = ns) (Fig. 2).

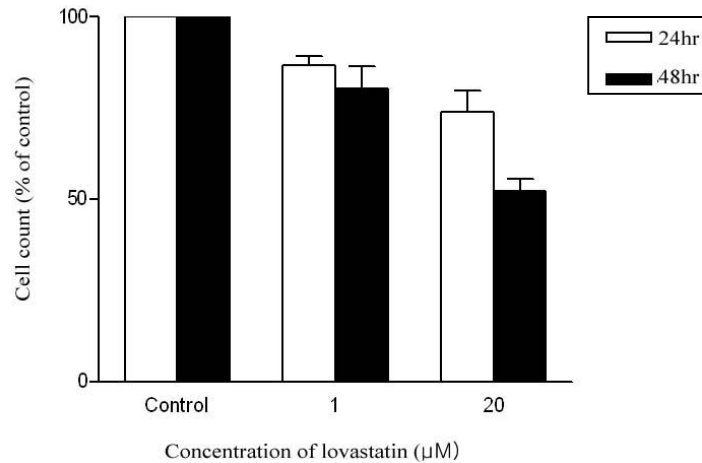


Fig. 2. Effects of lovastatin treatment on cell count in cultured L6 cells. Fully differentiated myotubes were treated with lovastatin (0, 1, 20 μ M) for 24 hrs or 48 hrs (n = 3). Cell counts were expressed as percentage of total number of control cells for each individual set of cells. Data are mean \pm SE.

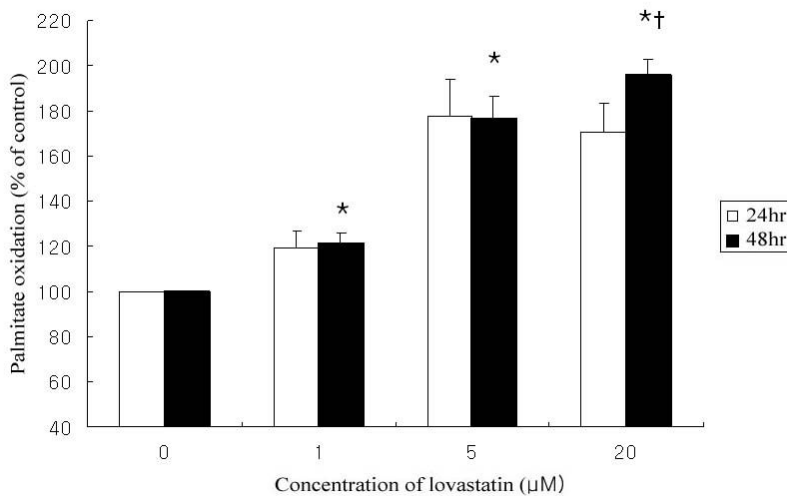


Fig. 3. Effects of lovastatin treatment on palmitate oxidation activity in cultured L6 cells. Fully differentiated myotubes were treated with lovastatin (0, 1, 5, 20 μ M) for 24 hrs (n = 3) or 48 hrs (n = 8). Myotubes were incubated with ³H-palmitate (5 mM final concentration) for 3 hr at 37°C. Products of oxidation were monitored as ³H₂O released to the media. Results are mean \pm SE. * *P* < 0.01 vs control value. † *P* < 0.01 vs value in 24 hr.

3. L6 골격근배양 세포에서 Lovastatin이 Palmitate의 산화에 미치는 영향

Lovastatin 처리하지 않은 대조군에서 palmitate의 산화 값은 30.4 ± 3.2 nmol/mg protein/3hr이었다. 각 개체에서 lovastatin에 의한 상대적 산화량은 약물 처리하지 않은 대조군의 변화에 대한 퍼센트로 나타내었다. Lovastatin을 처리 후 palmitate의 산화는 약물 농도가 증가할수록 지방산 산화도 증가하는 경향을 보였다(24 hr: 1 μ M $119.2 \pm 11.9\%$, 5 μ M $140.9 \pm 8.1\%$, 20 μ M $150 \pm 5\%$, $P = 0.05$ vs control, respectively, 48 hr: 1 μ M $120.9 \pm 14.5\%$, 5 μ M $176.6 \pm 28.2\%$, 20 μ M $196.0 \pm 19.9\%$, $P < 0.01$ vs control, respectively) (Fig. 3). 이런 반응은 24시간군과 48시간군 모두에서 비슷하였으나 24시간군에서는 개체수가 적어서인지 통계적인 차이를 보이지 않았으나 48시간 약물 처리군에서는 1 μ M 농도부터 대조군에 비해 유의하게 지방산 산화가 증가하였다. 같은 약물 농도에서 48시간 lovastatin 처리 시 24시간 처리군에 비해 1, 5 μ M에서는 지방산 산화가 증가하는 경향을 보였으나 통계적인 유의성을 보이지 않은 반면, 20 μ M 처리 시에는 48시간군에서 24시간군에 비해 통계적으로 유의하게 증가하였다($P < 0.01$).

고 찰

인슐린저항성이 제2형 당뇨병과 대사성 증후군의 주요 병태 생리이며, 이런 환자에서 혈중 중성지방, 유리 지방산, LDL-콜레스테롤의 증가 및 HDL-콜레스테롤의 감소 등이 상지혈증이 흔히 동반된다^{1,16}. 따라서 제2형 당뇨병이나 대사성 증후군에서 지질 강하제가 흔히 투여된다¹². 그 중에서도 이미 여러 임상연구에서 효과가 입증되고 LDL-콜레스테롤 저하효과가 탁월한 HMG-CoA reductase 억제제인 statin이 가장 많이 쓰이고 있다¹⁷.

최근 몇몇 임상 연구에서 statin이 콜레스테롤 저하효과 외에도 혈당을 감소시키고 인슐린저항성을 개선시킨다고 보고되었다^{10,12-14}. 이런 효과는 statin이 혈중 중성지방 농도를 낮추어 고지혈증 상태에서 인슐린저항성을 일으키는 상태를 개선함에 따른 현상으로 생각된다^{10,13}. 골격근은 지방산을 주 에너지원으로 이용하는 기관으로, 이전 연구에서 비만이나 제2형 당뇨병환자의 골격근 세포에서 지방산 산화가 감소되어 있고 운동이나 thiazolidinedione 같은 약물 투여 후 지방산 산화가 증가되면 인슐린저항성도 호전됨을 보고하였다^{4,5,11,18}.

본 연구는 쥐 골격근 배양세포인 L6 골격근 세포를 이용하여 statin이 지방산의 산화에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

본 연구에서 lovastatin은 L6 골격근 배양세포에서 지방

산 산화를 증가시켰다. Palmitate의 산화는 lovastatin 1 μ M 농도부터 대조군에 비해 증가하는 경향을 보였고, 약물 농도가 증가할수록 지방산 산화도 증가하여 5~20 μ M 에서 최대 효과를 나타내었다. 이는 골격근에서 lovastatin이 콜레스테롤 생성을 최대로 억제하는 농도와 비슷하다^{19,20}. 이런 반응은 24시간과 48시간군 모두에서 비슷하였고, lovastatin 20 μ M 처리 시 48시간군에서 24시간군에 비해 통계적으로 유의하게 증가하였다. 본 연구는 기질 농도가 일정하게 유지된다면 statin이 직접 골격근에서 지방산 산화를 증가시킬 수 있음을 시사한다. 이전 연구에서 statin이 간에서 지방산 산화를 증가시키는 것으로 보고되었다²¹. 따라서 statin의 인슐린저항성 개선 효과는 지방산 산화를 촉진시킴으로써, 조직 내 중성지방 축적을 줄여 인슐린에 대한 반응성을 향상시키는 데 기인한다고 볼 수 있다.

본 연구의 L6 골격근 배양 세포에서 lovastatin이 농도 및 시간에 비례하여 세포의 총 단백량을 감소시켰다. Statin 복용 시 근병증이 발생한 예가 보고 되었고, 전의 연구에서 골격근 세포나 심근 세포 배양에서 statin이 농도에 비례하여 세포 단백을 감소시켰다고 보고하였다^{19,22,23}. 이러한 독성은 statin의 종류에 따라 다르나 이전의 연구와 유사한 결과를 보여 statin이 골격근세포에 전반적으로 독성을 일으켜 세포 단백을 감소시킴을 보였다. 본 연구에서 lovastatin 처리 후 단백질이 감소하여 이로 인해 단위 단백질당 상대적으로 지방산 산화가 증가되었을 가능성을 생각할 수 있다. 그러나 저자의 또 다른 연구에서 statin-유발 근병증이 발생한 환자군과 근병증이 없었던 대조군에서 골격근 조직을 얻어 세포를 배양 후 양 군에 lovastatin을 처리하였다. 양 군에서 약물 처리 후 동일하게 단백질이 감소하였으나, 대조군에서는 지방산산화가 증가한 반면 statin-유발 근병증 환자군의 골격근 배양세포에서는 지방산 산화가 증가하지 않거나 오히려 감소하는 경향을 보였다(unpublished data). 물론 쥐의 골격근 세포와 사람의 골격근 세포가 대상이 달라 같다고는 할 수 없으나 statin-유발 근병증의 연구결과를 고려할 때, 본 연구에서 지방산 산화가 단순히 단백질 감소에 의한 결과라고는 생각하지 않는다.

최근의 한 연구에서 친지성 스타틴인 cerivastatin, fluvastatin, atorvastatin 또는 simvastatin 등이 고농도에서 세포의 apoptosis와 미토콘드리아에 독성을 나타냄을 보고하였다²⁴. 그러나 본 연구에서 lovastatin 20 μ M이 고농도이긴하나 실제로 단백질의 감소는 1 μ M의 저농도부터 감소하였고, 더군다나 Kaufmann 등의 연구에서는 약물 농도에 비례하여 지방산 산화가 감소하였으나 본 연구에서는 지방산 산화가 증가하였다²⁴. 또한 pravastatin이 친수성으로 미토콘드리아에는 거의 독성이 없는 것으로 나타났으나 실제 임상에서는 친지성, 친수성 statin 약물 간의 근병증 발생률은 비슷하다고 알려져 있다²⁵. 본 연구에서 lovastatin이 쥐의 골

격근 세포에서 지방산 산화를 증가시켰는데 다른 종류의 statin은 포함하지 않아 이 현상이 일반적인 statin의 효과인지는 알 수 없다. 다른 종류의 statin을 처리하여 비교 연구가 도움이 되리라 생각된다.

Statin이 어떤 기전으로 유리 지방산 산화를 증가시키는지에 대해서는 연구가 되어야 할 부분이다. 혈액 내 유리 지방산이 미토콘드리아를 통한 지방산 산화 과정 중 세포 내로의 유입 증가, carnitine palmitoyltransferase-1 (CPT-1)을 통한 미토콘드리아 내로의 유입 증가, 또는 미토콘드리아내 산화에 관련된 효소 활성화 중 어느 경로에 의한 것인지를 밝히는 후속 연구가 필요하리라 생각된다^{6,26}. 또한 유리 지방산에 의해 유발된 인슐린저항성이 insulin receptor substrate-1 (IRS-1) tyrosine 인산화와 IRS-1-관련 phosphatidylinositol (PI)3-kinase 활성화의 장애와 관련되었다고 알려져 있어 statin이 인슐린 신호전달 체계를 활성화 시켰을 가능성도 고려해야 할 것이다²⁷.

본 연구의 제한점으로는 L6 골격근 배양 세포가 균일하여 복잡한 생체내의 반응과 일치하지 않을 수도 있다. 사람에서의 연구가 필요하리라 생각된다. 그럼에도 불구하고 제 2형 당뇨병환자의 골격근에서 지방산 산화 증가가 인슐린저항성을 호전시켰다는 연구와 관련하여 statin이 골격근에서 지방산 산화의 증가를 통해 인슐린저항성 개선에 도움을 줄 것으로 기대한다^{18,19}.

요약하면, 본 연구에서 L6 골격근 배양세포에서 lovastatin이 유리 지방산 산화를 증가시킴을 알 수 있었다. 이는 lovastatin에 의한 지방산 산화의 증가가 골격근에 침착된 중성지방 농도를 감소시키고, 결국은 당 대사에서 인슐린저항성을 호전시킬 가능성을 시사한다.

요 약

연구배경: Statin이 혈당을 감소시키고 인슐린저항성을 개선시킨다고 보고되었다. 본 연구는 statin이 인슐린저항성의 주 조직인 골격근에서 지방산의 산화에 어떤 영향을 미치는지를 알아보려고 하였다.

방법: 쥐 골격근 세포인 L6 골격근세포를 배양하여 분화 후 lovastatin (0, 1, 5, 20 μ M)을 배지에 첨가하고 24시간 또는 48시간 후, [9,10-³H] palmitate를 이용하여 지방산 산화를 측정하였다. 또한 각 약물 농도에 따른 세포 단백량을 측정하였다.

결과: Lovastatin을 처리 후 palmitate의 산화는 lovastatin 1 μ M 농도부터 대조군에 비해 유의하게 증가하였고, 약물 농도가 증가할수록 지방산 산화도 증가하였다(24 hr, 1 μ M 119.2 \pm 11.9% of control, 5 μ M 140.9 \pm 8.1%, 20 μ M 150 \pm 5%, $P = 0.05$ vs control, respectively 48 hr, 1 μ M 120.9 \pm 14.5%, 5 μ M 176.6 \pm 28.2%, 20 μ M 196.0 \pm

19.9 %, $P < 0.01$ vs control, respectively). 이런 반응은 24 시간군과 48시간군 모두에서 비슷하였고, lovastatin 20 μ M 처리 시 48시간군에서 24시간군에 비해 통계적으로 유의하게 증가하였다($P < 0.01$). L6 골격근 배양 세포에서 lovastatin은 농도 및 시간에 비례하여 세포의 총 단백량을 감소시켰다(24 hr: 1 μ M 89.2 \pm 6.1% of control, 5 μ M 79.3 \pm 7.6%, 20 μ M 65.4 \pm 4.2%, $P = 0.05$ vs control, respectively, 48 hr: 1 μ M 81.7 \pm 5.1%, 5 μ M 58.6 \pm 11.9.2%, 20 μ M 48.1 \pm 6.9%, $P < 0.01$ vs control, respectively).

결론: Lovastatin은 쥐의 L6 골격근 배양 세포에서 지방산 산화를 증가시켰다. 골격근 세포에서의 지방산 산화의 증가가 lovastatin이 인슐린저항성을 호전시키는 하나의 기전일 가능성을 시사한다.

참 고 문 헌

1. DeFronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E: *Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview. Diabetes Care* 15:318-68, 1992
2. Baron AD, Laakso M, Brechtel G, Edelman SV: *Reduced capacity and affinity of skeletal muscle for insulin-mediated glucose uptake in non-insulin dependent diabetic subjects. J Clin Invest* 87(4): 1186-94, 1991
3. Boden G, Chen X, Ruiz J, White JV, and Rossetti L: *Mechanisms of fatty acid-induced inhibition of glucose uptake. J Clin Invest* 93:2438-46, 1994
4. Kelly DE, Goodpaster B, Wing RR, Simoneau JA: *Skeletal muscle fatty acid metabolism in association with insulin resistance, obesity, and weight loss. Am J physiol* 277:E1130-41, 1999
5. Kelly DE, Simoneau JA: *Impaired free fatty acid utilization by skeletal muscle in non-insulin-dependent diabetes mellitus. J Clin Invest* 26:2349-56, 1994
6. Gaster M, Rustan AC, Aas V, Beck-Nielsen H: *Reduced lipid oxidation in skeletal muscle from type 2 diabetic subjects may be of genetic origin: evidence from cultured myotubes. Diabetes* 53:542-8, 2004
7. Kelley DE, Goodpaster BH, and Storlien L: *Muscle triglyceride and insulin resistance. Annu Rev Nutr* 22:325-46, 2002
8. Virkamaki A, Korshennikova E, Seppala-Lindroos A, Vehkavaara S, Goto T, Halavaara J, Hakkinen AM, Yki-Jarvinen H: *Intramyocellular lipid is associated with resistance to in vivo insulin actions*

- on glucose uptake, antilipolysis, and early insulin signaling pathways in human skeletal muscle. *Diabetes* 50:2337-43, 2001
9. Mingrone G, DeGaetano A, Greco AV, Capristo E, Benedetti G, Castagneto M, Gasbarrini G: Reversibility of insulin resistance in obese diabetic patients: role of plasma lipids. *Diabetologia* 40:599-605, 1997
 10. Guclu F, Ozmen B, Hekimsoy Z, Kirmaz C: Effects of a statin group drug, pravastatin, on the insulin resistance in patients with metabolic syndrome. *Biomed Pharmacother* 58:614-8, 2004
 11. Goodpaster BH, Katsiaras A, Kelly DE: Enhanced fat oxidation through physical activity is associated with improvements in insulin sensitivity in obesity. *Diabetes* 52(9):2191-7, 2003
 12. Deedwania PC, Hunninghake DB, Bays H: Effects of lipid-altering treatment in diabetes mellitus and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 3:93(11A): 18C-26C, 2004
 13. Paolisso G, Barbagallo M, Petrella G, Ragno E, Barbieri M, Giordano M, Varricchio M: Effects of simvastatin and atorvastatin administration on insulin resistance and respiratory quotient in aged dyslipidemic non-insulin dependent diabetic patients. *Atherosclerosis* 150:121-7, 2000
 14. Freeman DJ, Norrie J, Sattar N, Neely RD, Cobbe SM, Ford I, Isles C, Lorimer AR, Macfarlane PW, McKillop JH, Packard CJ, Shepherd J, Gaw A: Pravastatin and the development of diabetes mellitus: evidence for a protective treatment effect in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Circulation* 103(3):357-62, 2001
 15. Bradford MM: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248-54, 1976
 16. Lewis GF, Carpentier A, Adeli K, Giacca A: Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endo Rev* 23:201-29, 2002
 17. Carmena R, Betteridge DJ: Statins and diabetes. *Semin Vasc Med* 4:321-32, 2004
 18. Miyazaki Y, Glass L, Triplitt C, Matsuda M, Cusi K, Mahankali A, Mahankali S, Mandarino LJ, DeFronzo RA: Effect of rosiglitazone on glucose and non-esterified fatty acid metabolism in type II diabetic patients. *Diabetologia* 44:2210-9, 2001
 19. Gadbut AP, Caruso AP, Galper JB: Differential sensitivity of C2-C12 striated muscle cells to lovastatin and pravastatin. *J Mol Cell Cardiol* 27:2397-402, 1995
 20. Masters BA, Palmoski MJ, Flint OP, Gregg RE, Wang-Iverson D, Durham SK: In vitro myotoxicity of the 3-hydroxy-3-methylglucaryl Coenzyme A reductase inhibitors, pravastatin, lovastatin and simvastatin using neonatal rat skeletal myocytes. *Toxicol Appl Pharmacol* 131:163-74, 1995
 21. Funatsu T, Kakuta H, Takasu T, Miyata K: Atorvastatin increases hepatic fatty acid beta-oxidation in sucrose fed rats: comparison with an MTP inhibitor. *Eur J Pharmacol* 455:161-7, 2002
 22. Fukami M, Maeda N, Fukushige J, Kogure Y, Shimada Y, Ogawa T, Tsujita Y: Effects of HMG-CoA reductase inhibitors on skeletal muscles of rabbits. *Res Exp Med* 193:263-73, 1993
 23. El-Ani D, Zimlichman R: Simvastatin induces apoptosis of cultured rat cardiomyocytes. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 12(4):325-38, 2001
 24. Kaufmann P, Torok M, Zahno A, Waldhauser KM, Brecht K, Krahenbuhl S: Toxicity of statins on rat skeletal muscle mitochondria. *Cell Mol Life Sci*:63: 2415-25, 2006
 25. Antons KA, Williams CD, Baker SK, Phillips PS: Clinical perspectives of statin-induced rhabdomyolysis. *Am J Med* 119:400-9, 2006
 26. Hamilton JA, Guo W, Kamp F: Mechanism of cellular uptake of long-chain fatty acids: Do we need cellular proteins? *Mol Cell Biochem* 239(1-2):17-23, 2002
 27. Kruszynska YT, Worrall DS, Ofrecio J, Frias JP, Macaraeg G, Olefsky JM: Fatty acid-induced insulin resistance: decreased muscle PI3K activation but unchanged Akt phosphorylation. *J Clin Endocrinol Metab* 87(1):226-34, 2002