

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**ACÁCIA MARIA DE JESUS**

**EFEITOS DA SINVASTATINA SOBRE A CAMADA SUBENDOTELIAL  
ARTERIAL DE COELHOS ALBINOS (*Oryctolagus cuniculus*) SUBMETIDOS À  
DIETA HIPERLIPÍDICA**

**MACEIÓ**

**2010**

ACÁCIA MARIA DE JESUS

Efeitos da sinvastatina sobre a camada subendotelial arterial de coelhos albinos  
(*Oryctolagus cuniculus*) submetidos à dieta hiperlipídica

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde – ICBS) da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para a obtenção do grau em mestre em Ciências da Saúde (área de concentração: doenças crônicas).

Orientador: Prof. Dr. Célio Fernando de Sousa Rodrigues

Maceió

2010

**Catlogação na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
**Bibliotecária: Helena Cristina Pimentel do Vale**

J58e Jesus, Acácia Maria de.  
Efeitos da sinvastatina sobre a camada sub-endotelial arterial de coelhos albinos (*Oryctolagus cuniculus*) submetidos à dieta hiperlipídica / Acácia Maria de Jesus. – 2010.  
71 f. : il. grafs., tabs.

Orientador: Célio Fernando de Sousa Rodrigues.  
Dissertação (mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Maceió, 2010.

Bibliografia: f. 63-71.

1. Hipercolesterolemia – Estudo experimental. 2. Sinvastatina – Avaliação.  
3. Aterosclerose. 4. Dieta hipercolesterolemia. I. Título.

CDU: 616.13-004.6



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Defesa da Dissertação de Mestrado da aluna Acácia Maria de Jesus intitulado: "EFEITOS DA SINVASTATINA SOBRE A CAMADA SUBENDOTELIAL ARTERIAL DE COELHOS ALBINOS (*Oryctolagus cuniculus*) SUBMETIDOS A DIETA HIPERLIPÍDICA", orientada pelo Prof. Dr. Célio Fernando de Sousa Rodrigues, apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Alagoas, em 16 de novembro de 2010.

Os membros da Banca Examinadora, consideraram a candidata APROVADA

**Banca Examinadora:**

Luiz Ferreira de Sousa

**Prof. Dr. Luiz Ferreira de Sousa - (UFAL)**

Benício Luiz Bulhões Barros Paula Nunes

**Prof. Dr. Benício Luiz Bulhões Barros Paula Nunes**

José Rui Machado Reys

**Prof. Dr. José Rui Machado Reys - UFAL**

***Dedico esse trabalho aos meus  
tão amados, esposo e filhos, que  
depositaram em mim toda  
confiança e esperança.***

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, Prof. Dr. Célio Fernando de Sousa Rodrigues por toda a paciência, conhecimento compartilhado, bons conselhos e por toda dedicação e ao seu trabalho;

A todos os colegas de laboratório que ajudaram direta ou indiretamente na realização desse trabalho;

Aos professores que aceitaram a participar dessa banca e com isso contribuir para o aprimoramento desse trabalho;

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde;

A Universidade Federal de Alagoas.

## RESUMO

**Introdução:** A aterosclerose é a condição patológica que antecede a maior parte dos episódios cardiovasculares, nomeados infarto do miocárdio e acidentes vasculares. Um dos mais importantes fatores envolvidos no processo aterosclerótico é a hiperlipidemia, um distúrbio metabólico que se apresenta pela elevação dos níveis plasmáticos lipídicos, particularmente do colesterol e dos triglicerídeos. As estatinas são utilizadas na cardiologia e endocrinologia para o tratamento da dislipidemia, pois sua ação se dá por inibição da enzima HMG-CoA Redutase. Diante disso, tornou-se o objetivo desse estudo analisar os efeitos da sinvastatina na estrutura do espessamento da camada subendotelial em coelhos, bem como sobre o perfil lipídico; **Métodos:** Os coelhos foram randomizados em três grupos, com n=7, G1 (grupo controle), G2 (tratado com gema de ovo) e G3 (gema de ovo mais sinvastatina). Após 99 dias de tratamento os animais foram eutanasiados sob anestesia em seguida foi realizada a dissecação dos órgãos de interesse, retirado o sangue e os órgãos para o processamento histológico; **Resultados:** O tratamento com sinvastatina em coelhos submetidos à dieta hiperlipídica durante 99 dias de reduz em 4,26% do espessamento da parede arterial, reduz os níveis plasmáticos de colesterol total em 31% e de 59,7 e 75,1% de triglicerídeos, no entanto, não reduz as frações de colesterol LDL, VLDL e HDL em modelos experimentais que administrem colesterol exógeno; **Conclusão:** A sinvastatina tem efeito protetor sobre o espessamento da parede subendotelial e efeito hipolipidêmico.

**Palavras-chave:** Aterosclerose. Coelhos. Sinvastatina. Espessamento subendotelial.

## **ABSTRACT**

**Introduction:** Atherosclerosis is a pathological condition which precedes the majority of cardiovascular events, named myocardial infarction and stroke. One of the most important factors involved in atherosclerosis is hyperlipidemia, a metabolic disorder that is presented by the elevation of plasma lipids, particularly cholesterol and triglycerides. The statins are used in endocrinology and cardiology for the treatment of dyslipidemia, its action is given by inhibiting the enzyme HMG-CoA reductase. Therefore, it has become the objective of this study was to investigate the effects of simvastatin on the structure of the thickening of the subendothelial layer in rabbits, as well as on the lipid profile; **Methods:** The rabbits were randomized into three groups, with n = 7, G1 (group control), G2 (treated with egg yolk) and G3 (yolk plus simvastatin). After 99 days of treatment the animals were killed under anesthesia and afterwards were dissected organs of interest removed from the blood and organs for histological processing; **Results:** Treatment with simvastatin in hyperlipidemic rabbits subjected to diet for 99 days reduced 4.26% thickening of the arterial wall reduces plasma levels of total cholesterol at 31% and 59.7 and 75.1% of triglycerides, however, not reduce the fractions of LDL, VLDL and HDL models experimental administering exogenous cholesterol; **Conclusion:** Simvastatin has a protective effect on the thickening of subendothelial and hypolipidemic effect.

**Keywords:** Atherosclerosis. Rabbits. Simvastatin. Subendothelial thickening.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Gaiola individual para coelho.....	31
Figura 2 – Marcação na orelha do coelho.....	32
Figura 3 – Pesagem de coelho.....	33
Figura 4 – Artéria auricular central.....	33
Figura 5 – Preparo da dieta: gema mais colesterol.....	34
Figura 6 – Foi oferecido 1,5g de colesterol em pó.....	35
Figura 7 – Cápsulas de sinvastatina e frascos individuais para cada animal.....	35
Figura 8 – Seringa para administração de dieta.....	36
Figura 9 – Administração da dieta.....	37
Figura 10 – Coleta de Sangue.....	37
Figura 11 – Tubetes.....	38
Figura 12 – Injeção de xilazina e quetamina intramuscular.....	39
Figura 13 – Arco aórtico no tórax do coelho.....	39
Figura 14 – Fragmento de arco aórtico.....	40
Figura 15 – Artéria femoral direita.....	40
Figura 16 – Arco aórtico normal (G1). Corada com tricômio de Masson 40x.....	42
Figura 17 – Arco aórtico com lesão (tipo II) de espessamento subendotelial (G2). Corada com tricômio de Masson 40x.....	43
Figura 18 – Arco aórtico com espessamento subendotelial (G3). Corada com tricômio de Masson 40X.....	43
Figura 19 – Artéria Carótida Comum Direita normal (G1). Corada com tricômio de Masson 40x.....	43
Figura 20 – Bifurcação da artéria carótida comum direita normal (G1). Corada com tricômio de Masson 40x.....	44
Figura 21 – Bifurcação da artéria carótida comum direita normal (G3). Corada com tricômio de Masson 40x.....	44
Figura 22 – Artéria femoral direita normal (G1). Corada com tricômio de Masson 40x.....	44
Figura 23 – Artéria femoral Direita normal (G2). Corada com tricômio de Masson 40x.....	45

Figura 24 – Artéria femoral direita normal (G3). Corada com tricômio de Masson  
40x.....45

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Erro Padrão da Média de colesterolemia total conforme os dias de experimento e o grupo.....	48
Gráfico 2 – Taxas de colesterol HDL (mg/dL) nos grupos G1, G2 e G3.....	49
Gráfico 3 – Taxas de colesterol LDL (mg/dL) nos grupos G1, G2 e G3.....	50
Gráfico 4 – Taxas de colesterol VLDL (mg/dL) nos grupos G1, G2 e G3.....	51
Gráfico 5 – Taxas de Triglicérides (mg/dL) nos grupos G1, G2 e G3.....	52

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Média do percentual de espessamento de camada subendotelial da aorta em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ) no grupo (G2), ração + 10 mL gema de ovo de galinha + 1,5g de colesterol.....	46
Tabela 2 – Média do percentual de espessamento de camada subendotelial da aorta em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ) no grupo (G3), ração + 10 mL gema de ovo de galinha + 1,5g de colesterol.....	47
Tabela 3 – Peso dos animais (Kg).....	53

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	15
<b>2.1 A arteriosclerose</b> .....	15
2.1.1 Aspectos histológicos de artérias normais.....	16
2.1.2 Classificação.....	17
2.1.2.1 Lesão Tipo I.....	17
2.1.2.2 Lesão Tipo II.....	18
2.1.2.3 Lesão Tipo III.....	18
2.1.2.4 Lesão Tipo IV.....	19
2.1.2.5 Lesão Tipo V.....	19
2.1.2.6 Lesão Tipo VI.....	19
<b>2.2 Elementos do processo aterogênico</b> .....	20
<b>2.3 Etiopatogenia da aterosclerose</b> .....	21
<b>2.4 Modelo Experimental</b> .....	23
<b>2.5 Tratamento da aterosclerose com estatinas</b> .....	26
2.5.1 Mecanismo de Ação das Estatinas.....	27
2.5.2 Efeitos pleiotrópicos das estatinas.....	28
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	30
<b>3.1 Gerais</b> .....	30
<b>3.2 Específicos</b> .....	30
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	31
<b>4.1 Animais</b> .....	31
<b>4.2 Randomização da amostra</b> .....	32
<b>4.3 Dieta</b> .....	34
<b>4.4 Preparo e administração da dieta hipercolesterolêmica</b> .....	35
<b>4.5 Análise bioquímica</b> .....	37
<b>4.6 Coleta das amostras para análise histológica</b> .....	38
<b>4.7 Eutanásia</b> .....	38
<b>4.8 Método estatístico</b> .....	41
<b>5 RESULTADOS</b> .....	42

<b>5.1 Análises microscópicas</b> .....	42
<b>5.2 Dados bioquímicos</b> .....	47
5.2.1 Níveis plasmáticos de colesterol.....	47
5.2.2 Níveis plasmáticos de colesterol HDL.....	48
5.2.3 Níveis plasmáticos de colesterol LDL.....	49
5.2.4 Níveis plasmáticos de colesterol VLDL.....	50
5.2.5 Dosagem de triglicerídeos.....	51
5.2.6 Peso dos animais.....	52
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	54
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	62
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	63

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são as principais causas de morbidade e mortalidade, sendo o problema de saúde mais importante na população adulta em Países desenvolvidos. A Organização Mundial de Saúde prevê que a prosperidade econômica global possa levar ao alastramento do problema aos países em desenvolvimento (PEREZ et al., 1998).

A aterosclerose é a condição patológica que antecede a maior parte dos episódios cardiovasculares, nomeados infarto do miocárdio e acidentes vasculares, (COTRAN; SCHOEN, 2000). Trata-se de uma condição que envolve a perda de elasticidade, o espessamento e o endurecimento das artérias, a aterosclerose é uma forma de arteriosclerose que inclui alterações do revestimento das artérias e o acúmulo de placas, levando a um estreitamento progressivo das artérias (WILMORE; COSTIL, 2001).

A hiperlipidemia sendo um distúrbio metabólico apresenta-se com a elevação da lipídemia, particularmente do colesterol e dos triglicérides. Do ponto de vista clínico, a hipercolesterolemia é mais importante, devido a sua estreita relação com a obstrução das artérias; em seguida estão os triglicérides elevados, que têm maior importância como causadores de pancreatite e, em menor escala, dos processos degenerativos dos vasos (BERTOLINI; BAZOTTE, 2002).

A hipercolesterolemia é uma condição na qual a concentração plasmática de colesterol excede valores referenciais. Concentrações elevadas de colesterol total e da fração LDL constituem importante fator de risco para o desenvolvimento da aterosclerose que, por sua vez, pode deflagrar a Doença Arterial Coronariana (DAC), cujo principal componente é o Infarto Agudo do Miocárdio (IAM) e o Acidente Vascular Cerebral (AVC), (SILVA et al., 2004).

Gennert et al., (2004), afirmaram que as estatinas são substâncias consagradas na cardiologia e endocrinologia para o tratamento da dislipidemia; têm sua ação por meio da inibição da enzima HMG-CoA Redutase– (3Hidroxy-3Methyl-Glutaryl-CoA), propiciando a redução da síntese de mevalonato e, por conseguinte, a produção de colesterol.

Canon, (2004); La Rosa (2005); Nissen et al., (2006) e Libby (2002), afirmaram que as estatinas reduzem a mortalidade em pacientes com aterosclerose, inclusive com evidências recentes de redução do volume da placa aterosclerótica e controle dos mecanismos de inflamação associados à gênese de ateroma. Qiao et al., (2009) escreveram que a HMG-coA Redutase são potentes inibidores da biosíntese de colesterol, e que através de ensaios clínicos com sinvastatina têm fornecido evidências claras que reduzem a incidência de doenças coronarianas.

Por muito tempo vem se aprimorando o conhecimento através de pesquisas experimentais dos mecanismos pelos quais uma artéria normal é submetida ao processo de aterosclerose, bem como seu tratamento. Pode-se observar consequências graves resultantes da ruptura da placa aterosclerótica. O fato de não terem sido encontradas referências que informassem em qual porcentagem a sinvastatina é capaz de reduzir o espessamento da camada subendotelial produzido pela doença aterosclerótica, motivou a presente pesquisa sendo esta quantificação o objetivo desse trabalho.



## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 A arteriosclerose

Luz et al., (2003), descreveram a aterosclerose como um processo crônico, progressivo e sistêmico tendo como mecanismo, resposta inflamatória e fibroproliferativa no endotélio de um vaso sanguíneo. Ainda, descreveram a patologia como uma causa comum no sentido de encontrar vasos arteriais comprometidos como a aorta, carótidas, renais, ilíacas e femorais. A hipercolesterolêmica está entre os principais fatores de risco para lesão arterial como também hipertensão arterial, diabetes, tabagismo, obesidade, envelhecimento e fatores genéticos. Ainda citaram que os componentes da placa aterosclerótica são as células, principalmente as células musculares lisas arteriais e os lipídeos, a maioria extracelulares. As proporções relativas desses dois componentes principais, assim como das proteínas fibrosas e dos produtos complexos de carboidratos das células musculares lisas, variam de placa para placa. Essas proporções também variam durante a seqüência de desenvolvimento ou regressão de uma determinada placa.

Diversos ensaios clínicos vêm mostrando a hipercolesterolemia relacionada com a doença aterosclerótica. A primeira conduta a ser adotada no tratamento das dislipidemias é a terapia nutricional (COSTA; MARTINEZ, 1997). O organismo equilibra delicadamente para suprir as necessidades de lipídios das células e em contra partida, evitar seu acúmulo excessivo. Por razões não esclarecidas, esse equilíbrio pode separar-se, aumentando o nível de um ou mais componentes lipídicos na corrente sangüínea, ao que se denomina dislipidemia. As alterações fisiopatológicas envolvidas na sua gênese promovem o acúmulo da Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL Colesterol) e da Lipoproteína de Muito Baixa Densidade (VLDL- Colesterol) nos compartimentos plasmáticos, resultando em hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia, respectivamente. A diminuição dos níveis séricos desses componentes e o diagnóstico precoce, quando elevados, têm colaborado para delicada queda da incidência e da mortalidade por doença

cardiovascular (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2004).

A aterosclerose caracteriza-se por lesões na túnica íntima, denominadas ateromas ou placas fibrogordurosas, que fazem protrusão na luz, enfraquecem a túnica média subjacente levando a uma série de complicações (DUQUE, 1998). Em humanos, as artérias sofrem mudanças progressivas e graduais do nascimento até a morte, e é difícil estabelecer onde os processos normais do envelhecimento terminam e onde os processos patológicos iniciam, pois cada artéria exibe seu próprio padrão de envelhecimento. Acredita-se que o espessamento uniforme da íntima é um fenômeno normal do envelhecimento (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

As placas ateroscleróticas possuem três componentes principais: (1) células, incluindo células musculares lisas, macrófagos e outros leucócitos; (2) matriz extracelular do tecido conjuntivo, incluindo colágeno, fibras elásticas e proteoglicanas e (3) depósitos lipídicos intracelulares e extracelulares. Os ateromas típicos contêm uma quantidade relativamente abundante de lipídios. Entretanto, muitas das denominadas placas fibrosas são compostas principalmente de células musculares lisas e tecido fibroso (COTRAN; SCHOEN, 2000).

### 2.1.1 Aspectos histológicos de artérias normais

De acordo com Junqueiro e Carneiro (2005), os vasos sanguíneos apresentam características comuns em sua estrutura quando alcançam certo diâmetro, como também o mesmo tipo de vaso apresenta variações estruturais notáveis ao longo de seu percurso. Desta maneira, a distinção entre os tipos diferentes de vasos nem sempre é muito clara, uma vez que a transição de um tipo de vaso para outro se faz de maneira gradual.

As artérias, como os demais vasos sanguíneos, são normalmente compostas de três camadas ou túnicas, a saber: túnica íntima, média e adventícia. A túnica íntima apresenta uma camada de células endoteliais apoiada em uma camada de tecido conjuntivo frouxo, camada subendotelial, a qual pode conter, ocasionalmente, células musculares lisas. Em artérias, a túnica íntima está separada da média por

uma lâmina elástica interna, que é o componente mais externo da íntima. Esta lâmina composta principalmente de elastina, possui aberturas (fenestras) que permitem a difusão de substâncias para nutrir células situadas mais profundamente na parede do vaso. Como resultado da ausência de pressão sanguínea e da contração do vaso por ocasião da morte, a lâmina elástica interna das artérias geralmente apresenta um aspecto ondulado nos cortes histológicos (JUNQUEIRO; CARNEIRO, 2005).

### 2.1.2 Classificação

As lesões ateroscleróticas são classificadas pela sua fisiopatologia em tipo I até VI, segundo a American Heart Association (AHA). As lesões leves são denominadas do tipo I e II, enquanto que as lesões intermediárias do tipo III e as lesões avançadas IV, V e VI (STARY et al., 1995).

#### 2.1.2.1 Lesão Tipo I

Esse tipo de lesão corresponde à formação de células espumosas. São características destas células as lesões iniciais que são formadas por macrófagos ricos em lipídeos. O início da lesão depende do acúmulo de LDL-c no espaço subendotelial. O transporte do LDL-c para esta região é um fenômeno passivo e diretamente proporcional a sua concentração sanguínea. O próprio stress hemodinâmico aumenta o aprisionamento da LDL que oxidado por ação de produtos oxidativos de células da parede arterial como endotélio, células musculares lisas e macrófagos (WU et al., 1992).

A LDL oxidada é reconhecida pelo macrófago, englobando as moléculas de lipoproteínas tornando-se ricos em conteúdo lipídico, formando a célula espumosa (ZAGO et al., 2007). Esta lesão do tipo I é microscópica e há um aumento no número de macrófagos e pelo surgimento das células espumosas, que são macrófagos

cheios de gordura, disposto na íntima do vaso comprometido e que tem sido evidenciada em crianças e adolescentes. Também pode ocorrer em adultos, principalmente em pessoas que tem pouca aterosclerose ou em áreas de artérias que tem resistência às lesões ateroscleróticas. Em coelhos com hipercolesterolemia, observou-se que a primeira alteração que ocorre nas artérias é a aderência aumentada de monócitos ao endotélio e acúmulo de macrófagos e células espumosas na túnica íntima (ROSENFELD, 1987; STARY, 1990).

#### 2.1.2.2 Lesão Tipo II

É a forma visível da lesão no vaso, também conhecida como estria gordurosa. São compostas por macrófagos, células musculares lisas e pequenos flocos de gordura extracelular. Há dois tipos diferentes desta lesão: a primeira são as menos usuais, no entanto com maior potencial destrutivo e são oriundas das lesões tipo I com um maior número de macrófagos, possuem maior número de células e maior quantidade de matriz extracelular. São comumente encontradas em áreas hemodinâmicas específicas e tendem a progredir rápido para formas mais complicadas de lesão aterosclerótica. Lesões tipo II são encontradas antes da 3<sup>o</sup> década de vida (STARY et al., 1994).

#### 2.1.2.3 Lesão Tipo III

Em relação à histologia desse tipo de lesão, são observada gotículas lipídicas extracelulares espalhadas entre as camadas de células musculares lisas e localizadas logo abaixo da camada de macrófagos e células espumosas. Estes pequenos depósitos de gotículas lipídicas extracelulares substituem a matriz intercelular de proteoglicanos e fibras e afastam as células musculares lisas. Posteriormente, estes pequenos depósitos lipídicos unem-se para formar um núcleo lipídico extracelular o que caracteriza a lesão do tipo IV ou ateroma (STARY et al.,

1995).

#### 2.1.2.4 Lesão Tipo IV

Essa lesão é o Ateroma. Possui um núcleo lipídico individualizado, formado pela fusão das gotículas de gordura das lesões tipo III. Apresenta macrófagos e gordura livre em abundância e fragmentos de células, devido à necrose. Diante deste fenômeno este núcleo é conhecido com centro necrótico (STARY et al., 1989).

#### 2.1.2.5 Lesão Tipo V

Essa lesão se caracteriza pela presença de tecido fibroso envolvendo o núcleo lipídico, dividindo se em fibroateroma que tem como característica a formação de uma camada de tecido fibroso envolvendo o núcleo lipídico, em placa calcificada correspondendo à presença de cálcio na camada fibrosa ou no núcleo lipídico e a placa fibrótica onde se evidencia o tecido fibrosado com ausência de núcleo lipídico, (STARY et al. 1995).

#### 2.1.2.6 Lesão Tipo VI

A preponderância é a formação de trombo, fissura, rotura, hemorragia ou erosão. São as causas dos eventos coronarianos isquêmicos agudos e geralmente são oriundos de placas do tipo IV ou V. A complicação da placa tem maior chance de ocorrer quando existe remodelamento do vaso, presença de um núcleo lipídico superior a 40% da área total da placa, capa fibrótica fina e presença de grande quantidade de células inflamatórias (STARY et al., 1992).

As placas ateroscleróticas na árvore arterial humana, geralmente atingem a parte abdominal da aorta que é mais extensamente comprometida do que a parte da

aorta torácica, já as artérias coronárias apresentam um comprometimento aterosclerótico mais intenso nos seus seis centímetros iniciais, as lesões aórticas tendem a ser mais proeminentes próximos aos óstios dos seus ramos principais, (BRAUNWALD, 1987).

Conforme Duque (1998) em seu estudo mostra que de todas as formas de esclerose arterial, a arteriosclerose é a mais significativa, em virtude das placas ateromatosas promoverem a obstrução do vaso e várias síndromes isquêmicas graves desde infarto do miocárdio, acidente vascular encefálico, gangrena dos membros, entre outras. Ainda afirma que em experimentos com animais, tratados por meio de uma dieta gordurosa, foram evidenciadas a aterosclerose, hipertensão arterial e diabetes *mellitus*. Com esta mesma dieta em macacos, porcos e coelhos, foram percebidas alterações celulares durante a formação do ateroma.

## **2.2 Elementos do processo aterogênico**

O endotélio vascular é importante na patogênese da aterosclerose. A manutenção da integridade estrutural e funcional do endotélio envolve síntese e secreção de fatores vasodilatadores como o óxido nítrico, bradicinina, prostaciclina e fatores vasoconstritores como a endotelina, tromboxano e angiotensina II (VANE et al., 1990; VOGEL, 1997). O endotélio também expressa proteínas de membrana que atuam como moléculas de adesão para receptores específicos de monócitos e linfócitos T. Estas moléculas são chamadas de selectinas como a E e P e proteínas pertencentes à família das imunoglobulinas como molécula de adesão vascular (VCAM-1) e as moléculas 1, 2 e 3 de adesão intercelular (ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3). O endotélio ativado por agentes inflamatórios expressa maior quantidade de moléculas de adesão e substâncias quimiotraentes o que facilita a adesão e migração de monócitos (MARTÍNEZ-GONZÁLEZ et al., 2001; COLOMÉ et al., 2000).

A patogenia das doenças vasculares passa por um processo crítico que é a ativação endotelial, visto que é induzida por estímulos que, reconhecidamente contribuem para a lesão vascular, resultando em respostas que influenciam o início e

evolução das lesões vasculares. A citocina e os produtos bacterianos são indutores da ativação endotelial que causam lesão inflamatória e choque séptico; estresses hemodinâmicos e produtos lipídicos como LDL oxidada e colesterol, críticos para a patogenia da aterosclerose; produtos terminais da glicosilação avançada (importantes no diabetes), bem como vírus, componentes do complemento e hipóxia. Por sua vez, as células endoteliais ativadas elaboram moléculas de adesão, outras citocinas e quimiocinas, fatores de crescimento, moléculas vasoativas que resultam em vaso constrição ou em vasodilatação, moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), pró-coagulantes e anticoagulantes, bem como uma variedade de outros produtos gênicos com atividade biológica (COTRAN; SCHOEN, 2000).

Stary e colaboradores (1994) afirmam que a túnica adventícia em lesões avançadas onde ocorre grande acúmulo de lipídeos na íntima levando a ruptura e deformação desta túnica, estes mesmos depósitos podem modificar a média e a adventícia subjacente.

### **2.3 Etiopatogenia da aterosclerose**

A patogenia da aterosclerose deve justificar o papel importante dos fatores de risco, a natureza focal das lesões e sua localização na íntima, a presença de lipídios na maioria das lesões e os mecanismos da proliferação das células musculares lisas, (ROBBINS et al., 1991).

O aumento da aderência de monócitos no endotélio de suínos, coelhos, macacos e pombos, é causado pela hipercolesterolemia (STARY et al., 1994). O acúmulo de LDL no espaço subendotelial parece ser um dos primeiros episódios associados ao desenvolvimento das lesões. As LDL retidas na parede sofrem processos de oxidação, (LDL<sub>ox</sub>), gerando produtos com atividade quimiotática para monócitos e células musculares lisas (CML). Os monócitos atravessam o endotélio e se diferenciam em macrófagos, estes últimos possuem a capacidade de capturar essas LDL modificadas em grandes quantidades e transformando-se em células

espumosas. Essas LDL modificadas ou oxidadas são capturadas através dos receptores *scavenger* (depurador) na membrana do macrófago. O acúmulo de células espumosas na íntima leva a formação da estria gordurosa (BROWN; GOLDSTEIN, 1983).

As LDLs oxidadas (LDLox), também estimulam a secreção pelos mastócitos de IL-1, que é fator de crescimento para as células musculares lisas. Citocinas e outras substâncias produzidas pelas células endoteliais, CML e linfócitos T também são produzidos, o resultado da interação destes fatores é uma resposta fibroproliferativa que promove o desenvolvimento da estria gordurosa para a placa aterosclerótica completa (recoberta por tecido conjuntivo contendo macrófagos, CML, células espumosas e linfócitos). O progressivo aumento da lesão fibrocelular faz a placa abaular para a luz da artéria, porém, na ausência de complicações (ruptura, trombose) a superfície luminal permanece lisa, o perfil da luz muda pouco e são preservadas condições que garantem um fluxo sanguíneo estável. Com a continuidade da progressão da fibrose e calcificação distrófica, a placa aumenta de volume e provoca abaulamento para fora da artéria, abaixo da placa, com o que a artéria se dilata mantendo a luz vascular eficiente mesmo na presença de placas intimais relativamente grandes (DUQUE, 1998; COTRAN; SCHOEN, 2000).

O que leva a formação de uma placa é a seqüência complexa interagindo de diferentes maneiras e duração conforme o grau de exposição aos fatores de risco e as características do ambiente micro anatômico estrutural e hemodinâmico da artéria lesada. As ações de “remodelagem” que ocorrem na placa são específicas do paciente e do segmento arterial comprometido. Algumas placas ficam estáveis, outras progridem (e estenosam o vaso), outras sofrem complicações e outras até mesmo regridem. Em muitas situações são formadas novas placas sobre as placas já existentes. Como a maioria dos trombos-oclusões arteriais que geram isquemias teciduais é derivada das complicações da placa ateromatosa, o estudo da estabilidade e instabilidade da placa é fundamental no diagnóstico, no prognóstico e na terapêutica da aterosclerose clínica (DUQUE, 1998).



## 2.4 Modelo Experimental

Têm sido utilizados vários modelos animais para o estudo das doenças relacionadas à aterosclerose. As espécies utilizadas inicialmente consistiam predominantemente de roedores, porém outras espécies, como aves e, atualmente, os mamíferos não-primatas e primatas vem sendo utilizados com maior frequência (MARTY et al., 2005; NARAYANASWAMY, 2000).

Martinello (2006) afirmou que os animais da espécie de roedores são freqüentemente, utilizados como modelo experimental para avaliar os efeitos hipolipemiantes de muitos compostos naturais e sintéticos, ressaltando que nem todas as espécies apresentam o metabolismo lipoprotéico comparável ao de humano. Segundo o autor, o coelho foi o primeiro modelo de animal utilizado na pesquisa da aterosclerose. Acrescenta ainda que esta espécie possui um metabolismo lipoprotéico muito semelhante ao de humanos, exceto por sua deficiência na lipase hepática. Devido à fácil absorção, os coelhos respondem muito bem à dieta altamente gordurosa ou colesterolêmica e desenvolvem lesões em curto período de tempo. No entanto, as lesões contêm mais gordura e macrófagos que as de humanos e os níveis plasmáticos de colesterol são extremamente altos, diferente dos humanos (LUZ et al., 2003) acrescentaram que estudos experimentais demonstraram que, em animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica, a reatividade vascular encontra-se diminuída em cerca de dez semanas após a instituição da dieta.

Em estudos experimentais que sejam necessários a indução de placas ateroscleróticas, os coelhos são os melhores modelos, devido à excreção lenta do colesterol exógeno e desenvolvimento da doença de forma rápida, sendo que as lesões são mais evidentes na parte proximal, do que na distal da aorta (BISSOLI, 2005). Segundo Ribeiro e colaboradores (1997) em relação aos modelos experimentais para indução de aterosclerose em ratos, suínos, cachorros e coelhos, utilizaram o colesterol puro diluídos em percentuais desde 0,5 % a 5% de colesterol ou incorporados a ração dos animais. Quando não foram colocados na ração foram utilizados veículos como: leite, gordura de coco, gordura de babaçu, óleo de coco.

Segundo Junqueira Jr e Ubatuba (2006), afirmaram que diversas espécies de animais foram utilizadas em pesquisa experimental em laboratório, sendo biológica e ou médica, visando vários objetivos, particularmente nas áreas da fisiologia e farmacologia. Entre as espécies incluíram como comumente utilizadas: Coelho - gênero *Oryctolagus sp. (cuniculus,)*, pertencendo à ordem *Lagomorpha*. Sendo que a variedade albina é de fácil criação, especialmente a raça *Nova Zelândia*, que chega a ter 4 – 5 kg de peso corporal. Segundo os autores, existem muitas raças, todas excelentes para estudos farmacológicos e imunológicos. Sendo o coelho um bom modelo experimental para estudo da aterosclerose.

Já Anitschkow (1913) induziu, pela primeira vez, aterosclerose em coelhos alimentando-os com gema de ovo e colesterol puro tendo resposta em algumas semanas de dieta: a aorta de 90% dos coelhos apresentou placas acinzentadas semelhantes às das coronárias de homens vítimas de infarto do miocárdio.

O coelho tem um esvaziamento gástrico muito lento, podendo encontrar resíduo alimentar com cinco dias de jejum. Por esses animais não conseguirem vomitar, seu estômago deve estar sempre cheio com alguma coisa, pois podem morrer se tiverem o estomago vazio. Outra viabilidade do uso do modelo é que drogas podem ser administradas por via oral, por meio de sonda oro gástrica ou na água de beber, injeções intravenosas podem ser feitas com muita facilidade na veia marginal da orelha, pela qual também se pode colher amostras de sangue para diferentes análises (MURDOCK, 1969; SARAIVA et al., 1978; STAHLKE Jr et al., 2004; MIRASOL, 2008).

Smith (2008), em seu estudo afirmou que os coelhos Nova Zelândia adultos, tem seu peso oscilando entre 4,5 kg para fêmeas e 5 kg para machos, são animais precoces chegando a pesar 1,8 a 2 kg em 8 a 10 semanas. As fêmeas são mansas e prolíferas. O metabolismo do coelho é lento, dieta gordurosa em excesso não é queimada, é armazenada como gordura do corpo. Herrera e colaboradores (2001) afirmam que uma dieta fibrosa estimula a digestão no coelho, e que sua redução determina diarreia devido ao crescimento de bactérias indesejáveis.

Manresa e Recedilla (1986) utilizaram em estudo experimental onde foram cobaias, ratas Sprague-kawly, tratadas com 2% de colesterol e mais 5% de óleo de

coco durante 60 dias, Nesse estudo ficaram evidenciadas lesões ateromatosas na parte abdominal da aorta e em bifurcações. Segundo as autoras, a lesão inicia-se com estria gordurosa, que tem aspecto esbranquiçado, elevando discretamente o endotélio e em seguida a formação da placa fibrosa, caracterizando o ateroma.

Em experimento anterior, realizado pelo grupo de pesquisa da autora desta tese, Bernardino e Sousa-Rodrigues (2008), utilizaram para promoção de lesões na camada subendotelial do vaso, uma dieta com gema de ovo de galinha e outra com banha de porco, por apresentarem alto teor de gordura em relação aos outros alimentos hiperlipidêmicos e por apresentar alto índice de colesterol total. Pode ser visto que em 20 mL de gema apresenta em média 200 mg de colesterol total e 20 mL de banha valor médio de 14 mg de colesterol total. Segundo estes, a gema e a banha de porco, são bons alimentos para experiências referentes à colesterolemia, e são de baixo custo comparando-os com o colesterol em pó.

Felipe Jr. (2001), utilizou 26 coelhos machos, adultos jovens da raça Nova Zelândia, pesando  $2,5 \pm 0,5$ kg de peso corporal. Os animais foram divididos em três grupos, sendo o controle grupo A (N=7), e os grupos B (N= 9) e C (N=10) foram submetidos à indução da aterosclerose por ingestão de dieta rica em colesterol em 1,5g para 100g de ração, pelo período de 10 semanas, já Sekalska e colaboradores (2007), Anitsckow (1913), Amaral e colaboradores (1989) , em estudo experimental, utilizaram coelhos, machos, da raça Nova Zelândia com idade de 3 meses e peso 2,0 a 3,0kg. Os autores mostraram que o número de animais e o tempo utilizado em seus estudos foram o suficiente para obter resultados positivos em relação a formação de lesões aterosclerótica.

Em estudo experimental, a análise histológica de todo o seguimento da aorta sendo dissecado em cortes transversais e longitudinais fixado em formaldeído tamponado 4%, incorporado em parafina e os tecidos corados com tricômio de Masson (AGUILERA et al., 2006).

## 2.5 Tratamento da aterosclerose com estatinas

A primeira estatina descoberta foi a Compactina derivada de fungo *Penicillium brevicopactum* em 1976, porém devido a sua grande toxicidade hepática, em ratos, seu desenvolvimento clínico foi descontínuo. Assim, a primeira estatina aprovada para uso em humanos e largamente utilizada na prática clínica foi a lovastatina derivada do fungo *Aspergillus terreus* (ALBERTS et al., 1980).

O tratamento da aterosclerose se dá através de fármacos hipolipemiantes, tais como sinvastatina, atorvastatina, fluvastatina, pravastatina e rosuvastatina. Em estudos randomizados envolvendo estes fármacos mostraram que as estatinas são mais eficientes em baixar os níveis de colesterol total e LDL, como também reduzem moderadamente os níveis de triglicerídeos e aumentam os níveis de HDL, (FIEGENBAUM; HUTZ, 2006).

As estatinas agem inibindo a enzima HMG-CoA redutase, por ser chave na síntese intracelular de colesterol. E como consequência, há aumento do número de receptores de LDL nos hepatócitos que então removem mais VLDL, IDL e LDL da circulação para repor o colesterol intracelular, assim como reduzem a mortalidade cardiovascular e a incidência de eventos isquêmicos coronários agudos, necessidade de revascularizado do miocárdio, IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2007).

Rang e colaboradores (2003), Harvey e Champe (1997) e Silva (1998) citaram as estatinas como um grupo farmacológico amplamente utilizado para o tratamento da hipercolesterolemia que atuam inibindo a HMG-CoA redutase, enzima que limita a velocidade na síntese do colesterol. Afirmaram ainda que este grupo farmacológico é eficaz no tratamento da hipercolesterolemia e possui uma excelente tolerabilidade na população de dislipidêmicos.

As estatinas segundo Quintão (1994) são fármacos derivados de microorganismos e que interferem de forma eficiente na síntese celular de colesterol por inibição competitiva da enzima HMG-CoA redutase. As estatinas diminuem a colesterolemia por induzirem a diminuição da síntese de VLDL no fígado e por

induzirem formação de receptores que captam as LDL do plasma. A diminuição da síntese de VLDL explica o efeito parcial na queda da trigliceridemia.

É comparável a eficiência das estatinas na redução da colesterolemia em relação à das resinas seqüestradoras de ácidos biliares, porém superiores à dos fibratos e ácido nicotínico. As estatinas são melhores toleradas do que os fibratos e ácido nicotínico, mas inferiores quanto à capacidade de elevar os níveis do HDL-colesterol e de reduzir os triglicérides (QUINTÃO, 1994; HARVEY; CHAMPE, 1998).

Gonçalves e colaboradores (2006) afirmaram em seu estudo que o risco para a doença arterial coronariana pode ser reduzido, mostrado em estudos de intervenção, quando os níveis séricos de colesterol são controlados pelo tratamento farmacológico e pela dieta. Existem atualmente, muitos tipos de fármacos capazes de diminuir as hiperlipidemias, através das estatinas. Porém, afirmam que é um tratamento eficiente, e caro e que não está isento de efeitos colaterais, relacionados à dose do medicamento utilizado, como as estatinas.

### 2.5.1 Mecanismo de ação das estatinas

A administração oral de estatina resulta na redução de 30 a 50% nos níveis plasmáticos do colesterol total e LDL, dependendo da potência e dose da estatina usada. Sendo o receptor hepático de LDL, demonstra uma diminuição substancial dos níveis séricos de colesterol. Deste modo, as estatinas reduzem os níveis séricos de colesterol por dois mecanismos distintos: bloqueio da biossíntese hepática e aumento da depuração do LDL circulante. Além disso, o uso de estatinas também muda o perfil do LDL da forma pequena e densa mais aterogênica, para uma forma menos densa e menos aterogênica (LIAO; LAUFS, 2005).

Zhang e colaboradores (2009) fizeram um estudo com 50 coelhos da raça Nova Zelândia, dividindo aleatoriamente em grupo normal, grupo de modelos e os três grupos de tratamento medicamentoso, com sinvastatina (2,5 mg/kg/dia), dose baixa (0,25 g/kg/dia) e de alta dose (0,48 g/kg/dia) respectivamente (PERON et al.,

2008; NETO et al., 2007), em estudos utilizaram sinvastatina em coelhos, nas doses de 0,15 mg/mL e 20 mg/kg/dia, via gavagem.

O pico de concentração plasmática da Sinvastatina e de seus metabólitos é atingido cerca de 1,3 a 2,4 horas após a administração. A absorção da sinvastatina atinge os 85% e a biodisponibilidade é inferior a 5%. A ingestão concomitante de alimentos não afeta a absorção (MANO, 2001).

O papel protetor cardiovascular das estatinas pode ser explicada por sua capacidade de inibir HMGC<sub>o</sub>-A redutase e reduzir o LDL no sangue. Além disso, HMGC<sub>o</sub>-A redutase também são conhecidos por inibir migração de neutrófilos transendotelial, bem como que altera a capacidade quimiotática de monócitos. Além disso, as estatinas também podem prevenir a doença cardiovascular, como também inibir a síntese de ácido mevalônico, um precursor do colesterol e outros metabólitos, tais como adenosines isopentenil (que fazem parte do tRNA) e dolicol (usado em glicoproteína e síntese de CoQ10). Assim, as estatinas podem proteger contra a aterosclerose por modular a função das células posto em movimento por meio da inibição de proteína (VAQUERO et al., 2010).

### 2.5.2 Efeitos pleiotrópicos das estatinas

Desde o início, o uso de estatinas tem sido guiado pelos seus efeitos relacionados aos lipídios, ou seja, pela sua capacidade de redução do colesterol. Esse efeito se dá principalmente pela redução do LDL, havendo concomitantemente, uma discreta elevação do HDL e redução dos triglicerídeos. Contudo, há uma série de efeitos que não podem ser explicados com base apenas na redução lipídica, sendo denominados efeitos não-lipídio-relacionados ou efeitos pleiotrópicos. Como exemplo de efeito pleiotrópico, podemos citar os efeitos antiinflamatórios, antiproliferativo, antitrombótico e imunomodulador que as estatinas apresentam (EPSTEIN; CAMPESE, 2005).

Ainda que a sinvastatina seja um derivado sintético da lovastatina, é pois produto semi-sintético. Tendo como função a inibição da HMG-CoA redutase, por

esse elemento, mostrou-se útil no tratamento de doenças coronárias. Em sua farmacocinética sofre biotransformação, dando, por hidrólise, metabólitos ativos. Atinge a concentração máxima em 1,3 a 2,4 horas, sendo excretada principalmente pelas fezes num índice de 60% e parcialmente pela urina em um índice de 13%. (LIAO; LAUFS, 2005).

Ribeiro e colaboradores (2005) realizaram um experimento verificando o efeito das estatinas atorvastatina, fluvastatina, pravastatina e sinvastatina sobre a função endotelial, a peroxidação lipídica e a aterosclerose aórtica em coelhos hipercolesterolêmicos utilizando 0,5% de colesterol na dieta durante 45 dias, e concluíram que todas as estatinas tiveram efeito significativo e similar em reduzir a peroxidação lipídica nas LDL e na parede arterial, na regressão da aterosclerose aórtica e na reversão da disfunção endotelial, na redução do colesterol total plasmático, no teor de malonodialdeído na parede arterial.

Segundo Magalhães (2002), a sinvastatina apresenta excelente tolerabilidade na população de dislipidêmicos. Estudos de seguimento com populações distintas de dislipidêmicos mostra de forma consistente a redução de morbimortalidade por eventos ateroscleróticos com o uso de sinvastatina quer seja na prevenção primária ou secundária dos eventos isquêmicos da aterosclerose.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Gerais**

Esse estudo visou analisar os efeitos da sinvastatina na estrutura do espessamento da camada subendotelial em um modelo experimental de aterosclerose induzida em coelhos machos, albinos da raça Nova Zelândia, nas regiões do arco aórtico, artéria carótida comum direita e artéria femoral direita, bem como observar o perfil bioquímico sérico de lipoproteínas no sangue.

#### **3.2 Específicos**

- Comparar os efeitos da sinvastatina sob o espessamento da camada subendotelial arterial quantificando a porcentagem na estrutura do espessamento;
- Quantificar os efeitos da sinvastatina sob os níveis sanguíneos de triglicerídeos, colesterol total e frações.



## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Animais

Foram utilizados 21 coelhos machos, albinos da raça Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*) adultos, pesando entre 2 kg a 3 kg. Os animais nasceram em ninhadas na mesma época com intervalo de no máximo 15 dias. Foram criados até atingir o peso ideal na Escola Agrotécnica Federal de Satuba, AL, sendo admitidos para o experimento, ficaram em quarentena no Biotério da Universidade de Ciências da Saúde de Alagoas – UNCISAL. Quando terminou a quarentena, o menor peso do animal era de 2,285 kg e o maior 3,025 kg. Todos foram alojados em gaiolas individuais, em sala climatizada (Figura1), assim começando o estudo experimental.

**Figura 1 – Gaiola individual para coelho.**



Fonte: Autora, 2010

O tamanho da amostra foi definido baseado na maioria dos protocolos internacionais que utilizam esse modelo experimental, sendo estes realizados frequentemente com cinco ou sete animais.

## 4.2 Randomização da amostra

Os coelhos foram randomizados em três grupos com sete animais: grupo Controle (G1), Grupo Hipercolesterolêmico (G2), Grupo Sinvastatina (G3). Para randomização os animais foram enumerados de 1 a 21 e num saquitol foram colocados papéis enumerados. Foi solicitado a uma pessoa não participante do experimento a puxar do saquitol cada número. Conforme os números eram sorteados, os animais eram alocados um em cada grupo, até que os grupos estivessem completos. Os coelhos foram colocados em gaiolas individuais e pesados em uma balança digital de precisão Marte®, modelo AS 5000 C com carga máxima de 5 kg e mínima 5 g (Figura 2). Para evitar a mistura de animais durante as manipulações, cada animal recebeu um número na face interna da orelha direita com pincel atômico de cor preta (Figura 3).

**Figura 2 – Marcação na orelha do coelho.**



Fonte: Autora, 2010.

Os coelhos foram pesados da seguinte forma: no início do estudo, nos tempos 0, 33, 66 e 99 dias para que fossem recalculadas as doses do fármaco. A Sinvastatina foi adquirida em pó, acondicionadas em cápsulas, pela Farmácia de Manipulação Ao Pharmaceutico® e as cápsulas de cada animal eram colocadas em frascos individuais conforme o seu peso. Diariamente cada cápsula, contendo a

dosagem da sinvastatina, de acordo com o peso de cada animal, era aberta e seu conteúdo diluído em 5 mL de água destilada que era administrada ao animal correspondente. A cada 33 dias, partindo do tempo zero, foi coletado o sangue dos animais na artéria auricular central (fig. 4), para que fosse realizada a análise bioquímica do colesterol total, HDL, LDL, VLDL e triglicerídeos. As análises bioquímicas foram realizadas no Centro de Patologia e Medicina Laboratorial – CPML da Universidade de Ciências da Saúde de Alagoas – UNCISAL.

**Figura 3 – Pesagem de coelho.**



Fonte: Autora, 2010.

**Figura 4 – Artéria auricular central.**



Fonte: Autora, 2010.

### 4.3 Dieta

Para todos os grupos, foram oferecidas diariamente, ração e água *ad libitum*. Os grupos foram trabalhados da seguinte forma:

- **Grupo Controle (G1)** – alimentado somente com ração PURINA® *ad libitum* que continha a seguinte composição: cálcio 1,5%, extrato etéreo 2,%, fósforo 0,5% matéria fibrosa 18%, matéria mineral 12%, proteína bruta 15%, umidade 12%.
- **Grupo Hipercolesterolêmico (G2)** - foi alimentado com ração *ad libitum* + 10 mL de gema de ovo de galinha, categoria extragrande de marca Carnaúba®, tendo a seguinte composição: em 100 mL de gema apresenta 997,5 mg de colesterol; 28,7 g de lipídios totais e 8,53 g de ácidos graxos saturados + 1,5 g de colesterol (Impextraco®) em pó, figuras 5 e 6.
- **Grupo Sinvastatina** - foi alimentado com ração *ad libitum* + 10 mL de gema de ovo de galinha + 1,5 g de colesterol (Impextraco®) em uma única tomada, após 1h era administrada 0,3 mg/kg/dia de sinvastatina, diluída em 5 mL de água destilada (**Fig. 7**).

**Figura 5 – Preparo da dieta: gema mais colesterol.**



Fonte: Autora, 2010.

**Figura 6 – Foi oferecido 1,5g de colesterol em pó.**



Fonte: Autora, 2010.

**Figura 7 – Cápsulas de sinvastatina e frascos individuais para cada animal.**



Fonte: Autora, 2010.

A dosagem estabelecida para este estudo foi baseada em experimento anterior com administração de 0,15 mg/kg/dia (NETO et al., 2007).

#### **4.4 Preparo e administração da dieta hipercolesterolêmica**

A dieta foi preparada diariamente, evitando que os animais se contaminassem, ou que os alimentos se estragassem. A gema foi ofertada crua aos coelhos, pois

segundo Bernardino e Sousa-Rodrigues (2008), a opção por se administrar a gema na forma líquida, é para facilitar a maior absorção possível de colesterol que é melhor do que a administração na forma sólida.

A gema de ovo de galinha é composta por cerca de 200 mg de colesterol, em  $\pm$  10 mL, segundo laudo de análise realizada pela Secretaria de Agricultura e Abastecimento de São Paulo, (2008) em anexo. Antes do uso os ovos eram limpos e lavados com hipoclorito de sódio e deixados de molho nessa substância por um período de duas horas, após isso os que não fossem utilizados, eram acondicionados na geladeira para que evitasse deterioração e contaminação da dieta.

O Colesterol (1,5 g) foi administrado em 10 mL de gema de galinha, que era aspirada em uma seringa de 20 mL (Figura 8), conectada a um segmento de sonda nasogástrica (Nelaton). A sonda era introduzida até a orofaringe, quando a dieta era injetada, garantindo-se assim que o animal deglutisse toda a solução. O animal após a administração era mantido em posição com a cabeça inclinada para trás por cerca de dois minutos, para que fosse evitado regurgitamento (Figura 9).

**Figura 8 – Seringa para administração de dieta.**



Fonte: Autora, 2010.

**Figura 9 – Administração da dieta.**



Fonte: Autora, 2010.

#### **4.5 Análise bioquímica**

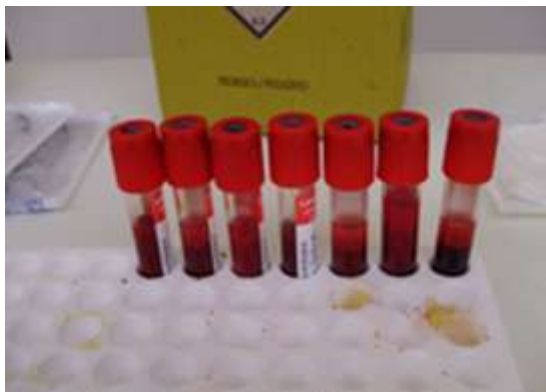
Foram realizadas as análises bioquímicas do sangue após um jejum de 12 a 14 horas em todos os coelhos, para verificação de suas taxas de colesterol total e frações HDL, LDL, VLDL bem como de triglicerídeos. Esse procedimento foi realizado quatro vezes (0, 33, 66 e 99). O sangue foi coletado (3 mL) na artéria auricular central (Figura 10), com seringa de 5 mL e acondicionados em tubetes de 5 mL sem heparina. (Figura 11).

**Figura 10 – Coleta de Sangue.**



Fonte: Autora, 2010.

**Figura 11 – Tubetes.**



Fonte: Autora, 2010.

O CPML recebeu, etiquetou e analisou os elementos bioquímicos. Todos os dados colhidos foram enviados através de protocolos específicos. Essas requisições foram feitas individualmente para cada animal, onde receberam uma numeração e nome: coelho 1, coelho 2.

#### **4.6 Coleta das amostras para análise histológica**

Finalizado o período experimental de 99 dias, no centésimo dia, os animais foram desprovidos de alimento durante 12 horas; a seguir amostras de sangue foram colhidas para a realização dos exames bioquímicos.

#### **4.7 Eutanásia**

A eutanásia, foi realizada no 100º dia do experimento, foi utilizada a associação da anestesia geral Xilazina ( 2%) - Rompu®, Bayer® – na dose de 30 mg (IM) SANFORD & COLBY, (1980). Com a Quetamina® (5%), na dose de 9 mg, via intramuscular (Figura12).



**Figura 12 – Injeção de xilazina e quetamina intramuscular.**



Fonte: Autora, 2010.

Quando o animal estava profundamente sedado, foi realizado teste através de reflexo doloroso, segundo KENT (1971), esse estímulo deve ser utilizado no coelho como critério antes de qualquer procedimento. O reflexo pode ser avaliado na orelha ou no pé, por preensão direta com qualquer instrumento que promova estímulo doloroso. Já Flecknel (1992), afirma que se com o estímulo houver contração muscular, ou lacrimejamento, conclui-se que a profundidade da anestesia é insuficiente para permitir qualquer procedimento cirúrgico. Após o teste foi aplicado lentamente 10 mL de cloreto de potássio a 0,19%, via endovenosa, monitorando o animal até o óbito, conforme preceitua a resolução nº 714 Art. 13, de 20 de junho de 2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária.

**Figura 13 – Arco aórtico no tórax do coelho.**



Fonte: Autora, 2010.

Na sequência foram retirados fragmentos do arco aórtico (início da aorta ascendente ao início a aorta descendente) (Figuras 13, 14); carótida comum direita (1/3 proximal da bifurcação); femoral direita (porção distal da íliaca comum) (Figura 15).

**Figura 14 – Fragmento de arco aórtico.**



Fonte: Autora, 2010.

**Figura 15 – Artéria femoral direita.**



Fonte: Autora, 2010.

Os segmentos arteriais foram cuidadosamente lavados com solução salina e fixados em solução de Bouin durante 24 horas à temperatura ambiente. Os segmentos do arco aórtico, artéria carótida comum direita e artéria femoral direita,

foram processados em rotina histológica para microscopia de luz, e coradas por tricômio de Masson.

Este estudo foi realizado avaliando-se em micrômetros, a espessura da camada subendotelial do arco aórtico, artéria carótida comum direita e artéria femoral. Para cada animal foram confeccionadas duas lâminas com quatro cortes histológicos.

Para calcular a porcentagem de espessamento da parede do vaso, foi determinada a região mais espessa da camada subendotelial. Esta área foi medida em micras e subtraída da espessura total da parede na mesma região, sem considerar a adventícia. Colhidas as medidas, as porcentagens foram calculadas com regra de três simples.

As microfotografias foram obtidas por um sistema de aquisição de imagem digital (formato TIFF, 36-bit color, 1.280 x 1.024 pixels, com câmera LC Evolution ) e microscópio (Nikon) com objetiva de 4 x 10, obtendo imagem 40x, acoplado a um microcomputador com software de análise de imagem.

#### **4.8 Método estatístico**

Os resultados foram analisados através da estatística descritiva usando como ferramenta software GraphPad Prism (versão 5.0). Os dados desta análise foram expressos em Erro Padrão da Média (EPM). Para comparações entre o grupo tratado e o hipercolesterolêmico, foi usado o ANOVA one-way e uso do teste de Newmann-Keuls-Sudant. (\*) denota nível de significância comparado ao grupo controle \*P<0,05.

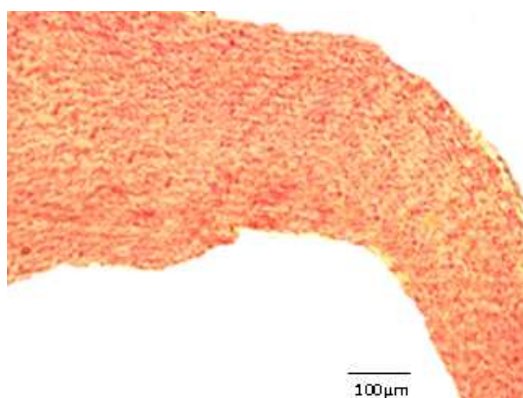
## 5 RESULTADOS

### 5.1 Análises microscópicas

Na análise de microscópica como esperado, foi evidenciado que os animais que receberam ração (grupo controle G1, figura 16), não apresentaram nenhuma anormalidade, porém os animais que receberam dieta hiperlipídica (G2, figura 17), ração + 10 ml gema de ovo de galinha + colesterol, apresentaram alterações subendoteliais comprometendo a espessura da parede do arco da aorta. Os animais que foram do grupo sinvastatina (G3, figura 18) apresentaram em média, menor espessamento da camada subendotelial que os do grupo G2. As alterações observadas ocorreram nos arcos aórticos. Nas carótidas e femorais não foram observados espessamentos, por este motivo a maior parte da apresentação dos resultados referem-se ao arco aórtico.

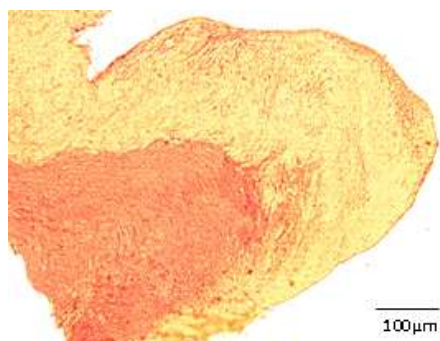
A análise dos segmentos arcos aórticos, dos animais dos grupos: G1, G2 e G3.

**Figura 16 – Arco aórtico normal (G1). Corada com tricômio de Masson 40x.**



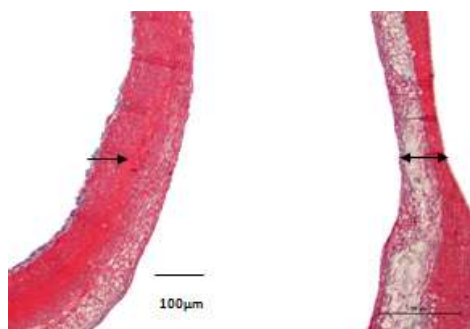
Fonte: Autora, 2010.

**Figura 17 – Arco aórtico com lesão (tipo II) de espessamento subendotelial (G2). Corada com tricômio de Masson 40x.**



Fonte: Autora, 2010.

**Figura 18 – Arco aórtico com espessamento subendotelial (G3). Corada com tricômio de Masson 40X.**



Fonte: Autora, 2010.

**Figura 19 – Artéria Carótida Comum Direita normal (G1). Corada com tricômio de Masson 40x.**



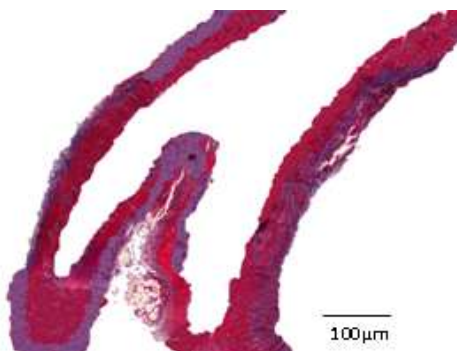
Fonte: Autora, 2010.

**Figura 20 – Bifurcação da artéria carótida comum direita normal (G1). Corada com tricômio de Masson 40x.**



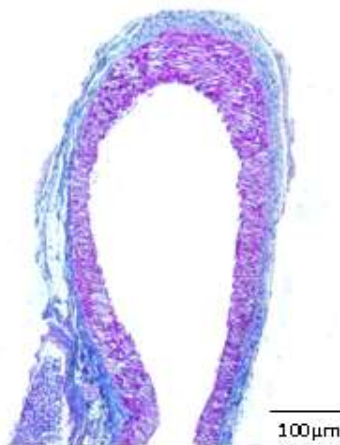
Fonte: Autora, 2010.

**Figura 21 – Bifurcação da artéria carótida comum direita normal (G3). Corada com tricômio de Masson 40x.**



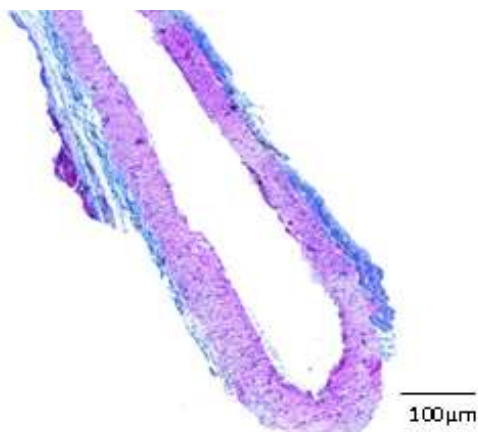
Fonte: Autora, 2010.

**Figura 22 – Artéria femoral direita normal (G1). Corada com tricômio de Masson 40x.**



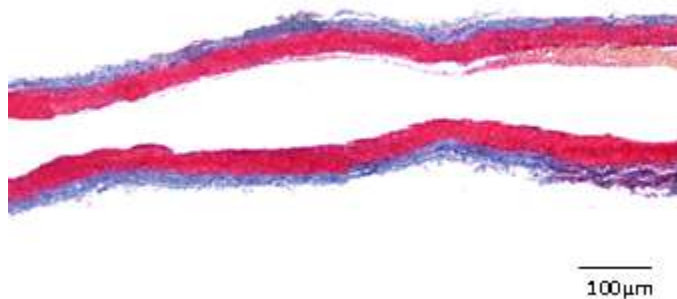
Fonte: Autora, 2010.

**Figura 23 – Artéria femoral Direita normal (G2). Corada com tricômio de Masson 40x.**



Fonte: Autora, 2010.

**Figura 24 – Artéria femoral direita normal (G3). Corada com Tricômio de Masson 40x.**



Fonte: Autora, 2010.

Após a realização das medidas, foi calculada a porcentagem de aumento na espessura da camada subendotelial do vaso (arco aórtico) em cada grupo, onde foi observado o seguinte:

**Tabela 1 – Média do percentual de espessamento de camada subendotelial da aorta em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ) no grupo (G2), ração + 10 mL gema de ovo de galinha + 1,5g de colesterol.**

	<b>PAREDE NORMAL (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>PAREDE TOTAL (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>AUMENTO DE ESPESSAMENTO (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>% DE ESPESSAMENTO</b>
<b>COELHO 1</b>	4,6	5,6	1,0	17,85%
<b>COELHO 2</b>	4,0	12,2	8,2	67,21%
<b>COELHO 3</b>	6,6	15,1	8,5	56,29%
<b>COELHO 4</b>	9,2	17,6	8,4	47,72%
<b>COELHO 5</b>	2,6	3,7	1,1	29,72%
<b>COELHO 6</b>	4,9	11,5	6,6	57,39%
<b>COELHO 7</b>	2,1	2,6	0,5	19,23%
<b>MÉDIA</b>				<b>42,23 %</b>

Fonte: Autora, 2010.

Como se pode observar, no grupo G2, a camada subendotelial da aorta, espessou em média 42,23%.

Os resultados relacionados aos grupo G3, estão apresentados na tabela 2, onde a média de espessamento subendotelial nas aortas foi de 39,17%. Em relação ao grupo G2, a Sinvastatina foi capaz de diminuir o espessamento da parede arterial 4,26% (média). Observou-se ainda que o comportamento do efeito da Sinvastatina é bem diferente a depender do animal, foi capaz de impedir completamente o efeito da aterosclerose em um animal, (coelho 5), no entanto praticamente não teve efeito em outro (espessamento de 73,80% - Coelho 7).



**Tabela 2 – Média do percentual de espessamento de camada subendotelial da aorta em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ) no grupo (G3), ração + 10 mL gema de ovo de galinha + 1,5g de colesterol.**

	<b>PAREDE NORMAL (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>PAREDE TOTAL (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>AUMENTO DE ESPESSAMENTO (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>% DE ESPESSAMENTO</b>
<b>COELHO 1</b>	4,3	6,3	2,0	31,75%
<b>COELHO 2</b>	1,8	4,1	2,3	43,09%
<b>COELHO 3</b>	1,5	2,3	0,8	34,78%
<b>COELHO 4</b>	1,4	3,5	2,1	40,00%
<b>COELHO 5</b>	0	0	0	0,00%
<b>COELHO 6</b>	1,3	2,6	1,3	50,00%
<b>COELHO 7</b>	1,1	4,2	3,1	73,08%
<b>MEDIA</b>				<b>39,17%</b>

Fonte: Autora, 2010.

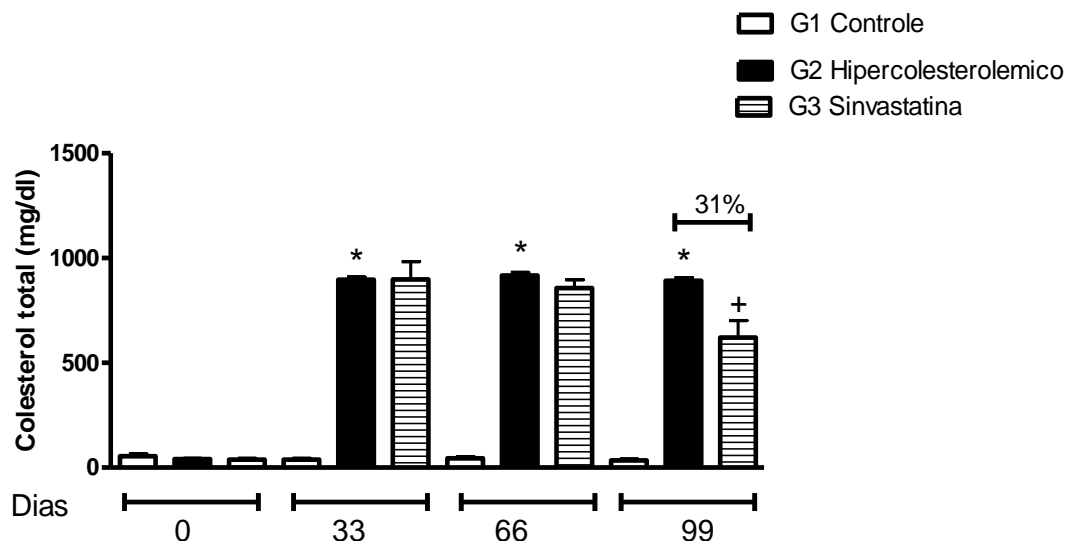
## **5.2 Dados bioquímicos**

### **5.2.1 Níveis plasmáticos de colesterol**

Na análise do gráfico 1, observa-se que as poucas variações nas taxas médias de colesterol total foram praticamente nulas durante todo o experimento (dias 33,66 e 99). Nos 33 dias os grupos G2 e G3 tiveram uma elevação significativa nas taxas de

colesterol total em relação ao G1. Com 66 dias os grupos G2 e G3 mantiveram praticamente o mesmo índice de elevação e com 99 dias ocorreu à diminuição significativa de 31% do colesterol do grupo G3 em relação ao G2.

**Gráfico 1 – Erro Padrão da Média de colesterolemia total conforme os dias de experimento e o grupo.**



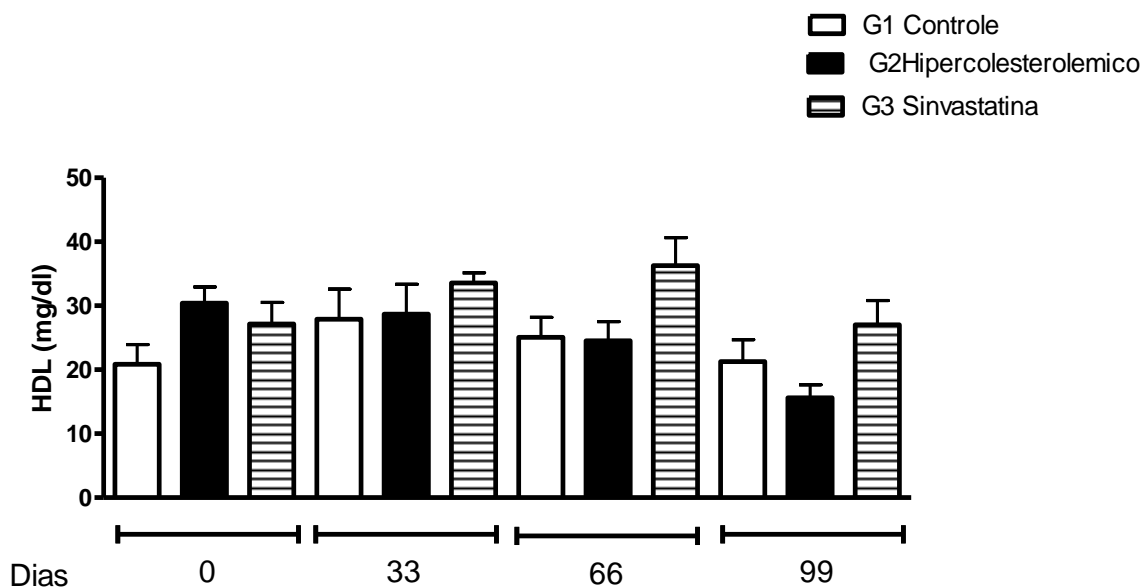
(G1) controle, (G2) 1,5g de colesterol + 10ml gema, (G3) 1,5 de colesterol + 10ml de gema de ovo de galinha + 0,3mgr de sinvastatina kg/peso. As diferenças estatísticas foram detectadas com ANOVA seguidos com o teste de Newmann-Keuls- Student. (+) denota nível de significância comparado ao grupo G2 e (\*) denota nível de significância comparado ao grupo controle \*P<0,05.

Fonte: Autora, 2010.

### 5.2.2 Níveis plasmáticos de colesterol HDL

Analisando os resultados do gráfico 2, referente a taxas de HDL (mg/dL), observou-se que o grupo G1 manteve o índice das taxas durante o experimento. O grupo G2 em comparação ao dia zero apresentou diminuição nas taxas, sendo significativo no tempo de 99 dias. Analisando as alterações entre G2 e G3, nos intervalos de tempo de 66 e 99 dias, apresenta aumento nas taxas, mostrando assim que a sinvastatina não inibe a produção de HDL.

**Gráfico 2 – Taxas de colesterol HDL (mg/dL) nos grupos G1, G2 e G3.**



Média  $\pm$  EPM (n=7). A análise estatística ANOVA seguida do pós teste de Newmann-Keuls-Student. (\*) denota nível significativo comparado ao grupo controle com  $*P<0,05$ .  
Fonte: Autora, 2010.

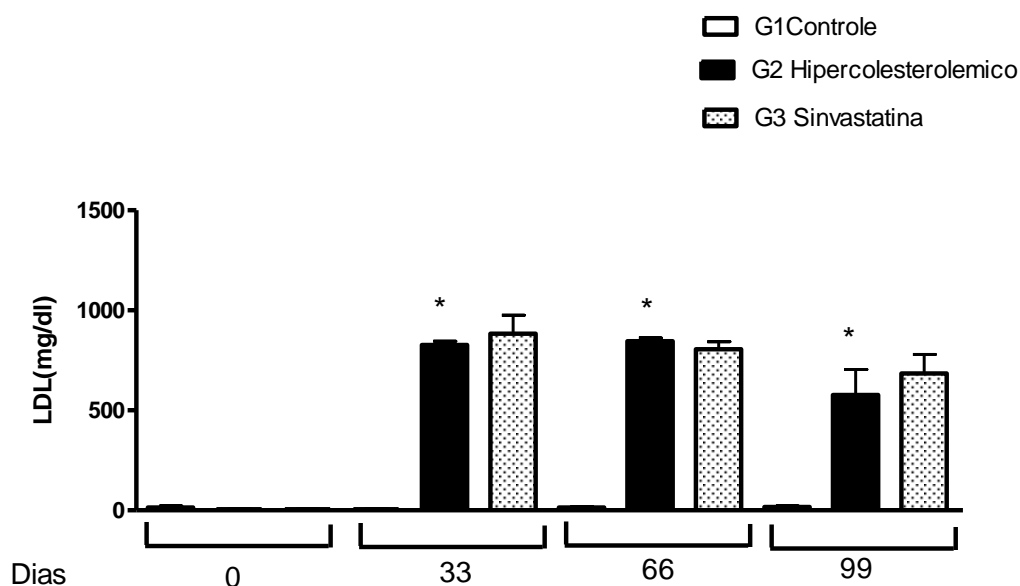
### 5.2.3 Níveis plasmáticos de colesterol LDL

Valores do LDL (mg/dL) plasmático em todos os intervalos de tempo (0, 33, 66 e 99 dias) para o grupo G1, se mantiveram durante o experimento sem alterações, sendo que comparando-o entre G2 e G3, em todos os intervalos de tempo do estudo, notou-se alterações significantes.

Comparando o G2 ao G1, houve alterações de elevações nas taxas do LDL, sendo que, se mantiveram em níveis de valores bem próximos nos intervalos de 33 e 66 dias, já no intervalo de 99 dias, houve alterações significantes, comparando ao G3.

A análise para o grupo G3, apresenta que quando comparado ao G1 nos intervalos de 33,66 e 99 dias, houve alterações significantes. Ainda analisando os resultados comparados ao G2, nos intervalos de 33, 66 e 99 dias, não houve alterações significantes nas taxas em nenhum tempo analisado, ou seja, a sinvastatina não reduziu os níveis de LDL.

**Gráfico 3 – Taxas de colesterol LDL (mg/dL) nos grupos G1, G2 e G3.**



As barras representam a média  $\pm$  EPM de 07 animais. As diferenças estatísticas foram detectadas com ANOVA seguidos com o teste de Newmann-Keuls-Student. (\*) denota nível significativo comparado ao grupo controle \* $P < 0,05$ .

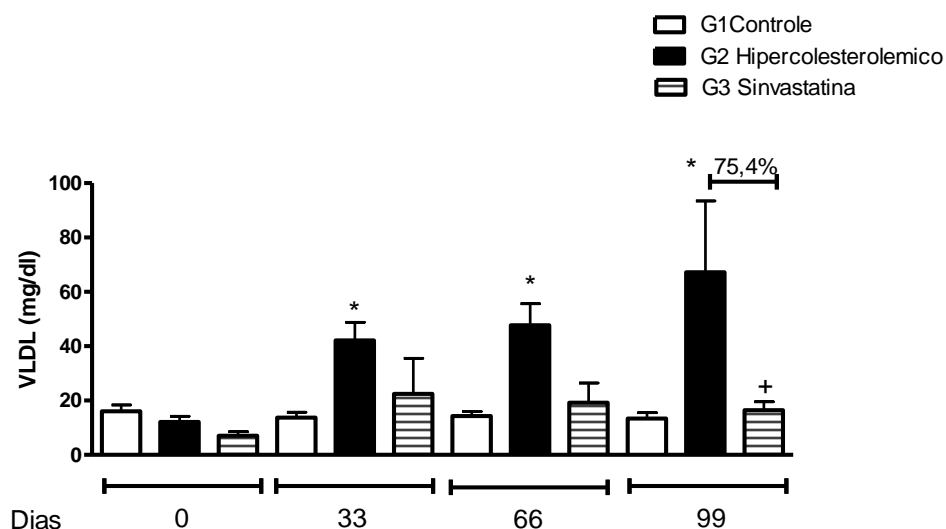
Fonte: Autora, 2010.

#### 5.2.4 Níveis plasmáticos de colesterol VLDL

O gráfico 4, mostra os valores das taxas de colesterol VLDL (mg/dL) plasmático. Nos valores apresentados observou-se que o grupo controle (G1), se manteve durante todo o experimento. O grupo G2, comparando ao G1, houve alterações significativas nas taxas de VLDL, onde o gráfico mostrou que ocorreu aumento em 33,66 e 99 dias.

O grupo G3, comparando ao G2, mostra através do gráfico que a sinvastatina reduziu esses níveis nos tempos 33 e 66, sendo que houve redução significativa num percentual de 75,4% com 99 dias.

**Gráfico 4 – Taxas de colesterol VLDL (mg/dL) nos grupos G1, G2 e G3.**



As barras representam a média  $\pm$  EPM de 07 animais. As diferenças estatísticas foram detectadas com ANOVA seguidos com o teste de Newmann-Keuls-Student. (+) denota nível de significância comparado ao grupo G2, como também (\*) denota nível de significância comparado ao grupo controle \* $P < 0,05$ .

Fonte: Autora, 2010.

### 5.2.5 Dosagem de triglicerídeos

O grupo G1 em todos os intervalos (33,66 e 99 dias) se manteve sem alterações significativas nas taxas de triglicerídeos em comparação a G2 e G3.

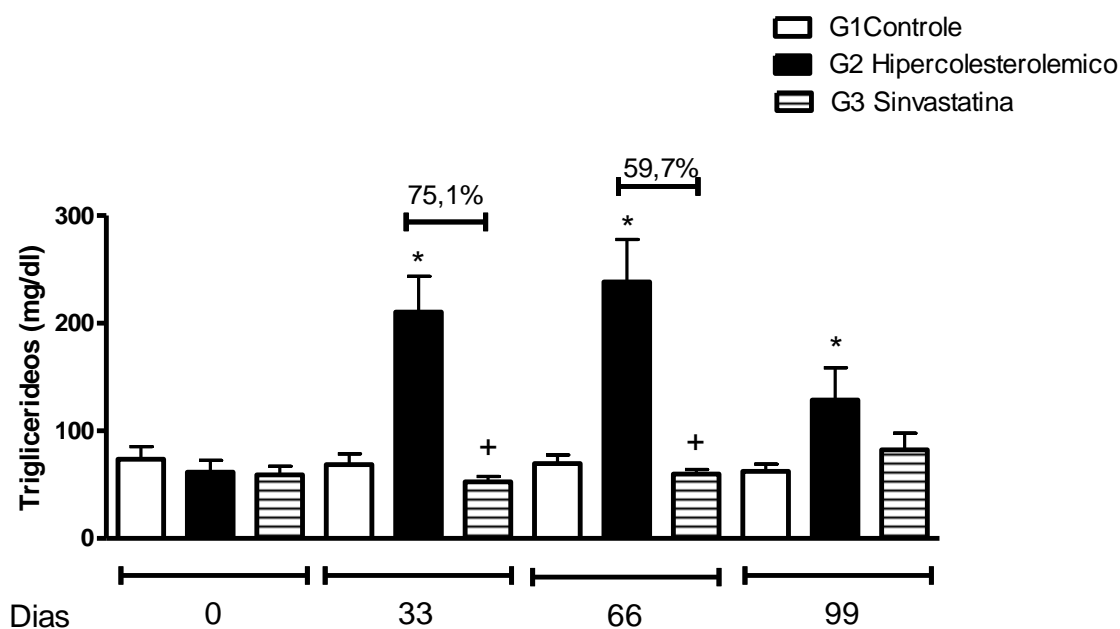
Analisando os resultados de G2 o gráfico mostra no intervalo de 33 dias, ocorreu elevação significativa como também com 66 dias. Com 99 dias, a elevação não foi significativa, comparando aos períodos anteriores.

Comparando os valores encontrados em G2 e G3, os resultados mostraram através de gráfico que, no intervalo de 33 dias, houve uma redução significativa de triglicerídeos de 75,1% e com 66 dias de 59,7%. No intervalo de 99 dias, houve redução, mas não tão significativa quanto aos períodos anteriores.

As análises dos resultados das taxas de triglicerídeos do Grupo G3 durante os intervalos de todo o experimento mostrou que houve alterações significativas, denotando que a dieta aumentou os níveis de triglicerídeos em todos os tempos

analisados, principalmente nos dias 33 e 66 e o tratamento com sinvastatina reduziu esses triglicéridos a níveis comparáveis ao controle, mesmo ainda na adaptação da dieta (33 dias).

**Gráfico 5 – Taxas de Triglicéridos (mg/dL) nos grupos G1, G2 e G3.**



Cada barra representa a média  $\pm$  EPM de 07 animais. As diferenças estatísticas foram detectadas com ANOVA seguidos com o teste de Newmann-Keuls-Student. (+) denota nível de significância comparado ao grupo G2, como também (\*) denota nível de significância comparado ao grupo controle \* $P < 0,05$ .

Fonte: Autora, 2010.

### 5.2.6 Peso dos animais

Os animais nasceram e foram selecionados de ninhadas da mesma época e randomizados nos grupos. O menor peso foi de 2,320 kg e o maior de 3,025 kg, não houve diferença significativa nos intervalos de tempo dentro dos grupos em relação à perda ou ganho de peso, como mostra a tabela 3.

Tabela 3 – Peso dos animais (Kg).

TEMPO (DIAS) GRUPOS	ZERO	33	66	99
<b>G1 CONTROLE/RAÇÃO</b>	3.434 ± 0.400	3.232 ± 0.445	3.379 ± 0.162	3.439 ± 0.165
<b>G2 RAÇÃO+COLESTEROL+ GEMA DE OVO</b>	3.174 ± 0.331	3.105 ± 0.312	3.238 ± 0.347	3.273 ± 0.132
<b>G3 RAÇÃO+COLESTEROL + GEMA DE OVO + SINVASTATINA</b>	2.813± 0.166**	2.727± 0.041*	2.686± 0.067*	2.581± 0.088*

**Erro Padrão da Média** (± EPM). (\*) denota nível de significância comparado ao grupo controle \*P<0,05.

## 6 DISCUSSÃO

Luz e colaboradores descreveram a aterosclerose como uma causa comum no sentido de encontrar vasos arteriais comprometidos como aorta, carótidas, renais, íliacas e femorais. Em nosso experimento, foram pesquisados e analisados os segmentos: arco aórtico, carótida interna direita e artéria femoral direita, os resultados mostraram que o segmento mais afetado foi o arco aórtico, isso é confirmado através da variação do espessamento, onde o mais afetado apresentou espessura de 67,21% e o menor espessamento foi de 17,85%, tendo uma média de 42,23% para o G2. No G3, Grupo Sinvastatina, o maior espessamento foi de 73,80% e o menor de 0,00% apresentando uma média de 39,17%, não observamos espessamentos em outros vasos.

Costa e Martinez utilizaram como primeira conduta no tratamento da arteriosclerose a terapia nutricional, partindo do princípio que o organismo se equilibra delicadamente para suprir as necessidades de lipídios das células e em contra partida, evitar seu acúmulo excessivo. As alterações fisiopatológicas envolvidas na sua gênese promovem o acúmulo da Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL Colesterol) e da Lipoproteína de Muito Baixa Densidade (VLDL- Colesterol) nos compartimentos plasmáticos, resultam em hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia, em nosso estudo ficou evidenciado que a dieta hiperlipídica, no intervalo de tempo programado (99 dias), foi suficiente para desenvolver iniciais e severas lesões ateroscleróticas em arco aórtico de coelhos albinos da raça Nova Zelândia. Foi observado também que os níveis séricos sofreram alterações significantes, em todos os intervalos de tempo (33,66 e 99 dias) do experimento.

Nos resultados microscópicos de nosso estudo o grupo mantido sob dieta colesterol + gema de ovo de galinha (G2), apresentaram espessamento da camada subendotelial com mais intensidade, no segmento aórtico analisado, isso também é mostrado em relatos de pesquisadores, como Stary e colaboradores, em seu estudo experimental, citaram uma possível explicação para a suscetibilidade de algumas regiões ao desenvolvimento dos espessamentos subendotelial a qual seria em parte, devido à túnica íntima apresentar maior número de camadas de células musculares



lisas nesta região. Ainda afirmaram que a utilização de níveis altos de colesterol em animais de laboratório levou ao desenvolvimento de lesões nas regiões suscetíveis e também grandes lesões amplamente dispersas em outros segmentos arteriais, como aquelas desenvolvidas em humanos com hipercolesterolemia de origem genética.

Schewenke e Carew mencionaram que lesões iniciais ocorrem com um padrão mais difuso no arco aórtico e aorta descendente e esta susceptibilidade poderia ser devido a uma elevação focal da degradação de LDL intacta na parede endotelial e ainda Contran e Schoen, descreveram que o arco aórtico é uma região onde as lesões ateroscleróticas são freqüentemente encontradas. A utilização de dieta suplementada com 1,5% de colesterol, neste estudo, mostrou ser eficiente na formação de lesões ateroscleróticas no arco aórtico com 99 dias. Morel e colaboradores da mesma forma induziram lesões ateroscleróticas na aorta de coelhos com adição de 1,0% de colesterol na dieta durante um período de 10 semanas.

Stary e colaboradores, Wu e colaboradores e Zago e colaboradores, citaram em seus estudos a classificação fisiopatológica para lesões ateroscleróticas segundo citação da American Heart Association (AHA), em seis estágios, sendo que leves são dos tipos I e II as lesões intermediárias do tipo III como lesões avançadas IV, V e VI, já Rosenfeld, observou que a primeira alteração que ocorre nas artérias é a aderência aumentada de monócitos ao endotélio e acúmulo de macrófagos e células espumosas na túnica íntima, microscopicamente. Duque, Junqueira e Carneiro, Contran e Schoen, afirmaram em seus estudos, que as lesões na túnica íntima são denominadas ateromas ou placas fibrogordurosas, compostas de células musculares lisas e tecido fibroso. Essas afirmações dos pesquisadores, mostram que as lesões encontradas como resultados em nosso estudo foram lesões intermediárias (tipo II), com estrias gordurosas.

Vogel, Martinez, González, Colomé e Vane, em suas pesquisas afirmaram que o endotélio vascular é importante na patogênese da aterosclerose. O endotélio ativado por agentes inflamatórios expressam maior quantidade de moléculas de adesão e substâncias quimiotraentes facilitando assim a adesão e migração de monócitos. Cotran e Schoen, assim como, Brow e Goldstein, afirmaram que a

hipótese mais aceita refere-se à aterosclerose como o resultado de uma resposta inflamatória da parede do vaso desencadeada por diferentes formas de lesão, como também o acúmulo de células espumosas na íntima leva a formação de estria gordurosa. A análise microscópica dos fragmentos arteriais, retirados dos coelhos de nosso estudo experimental mostrou a formação de espessamento na camada subendotelial, no arco aórtico.

Aguilera e colaboradores relataram em seu estudo que fizeram a análise histológica de todo o seguimento da aorta que foi dissecado, em cortes transversais e longitudinais colocado em formaldeído tamponado 4%, fixado em parafina e os tecidos corados com tricômio de Masson. Quanto aos resultados, os autores afirmaram que a aorta apresentou espessamento em todo o segmento, mas que o grau de acumulação de colesterol foi maior na parte torácica e no arco aórtico do que em segmentos abdominais.

Nossos resultados mostraram que o arco aórtico apresentou maior suscetibilidade para formação de lesões ateroscleróticas na camada subendotelial. Os outros vasos estudados não apresentaram lesões significantes.

Dupasquier e colaboradores afirmaram em seu estudo que utilizaram 96 coelhos, machos, de raça Nova Zelândia, pesando 2,5-3kg/peso corporal, separados aleatoriamente e quatro grupos de oito animais. Os mesmos foram alimentados por 6, 8 ou 16 semanas, 125g de ração de coelhos regular, sem nenhuma suplementação, outro grupo com dieta suplementada de 10% de linhaça, e mais um grupo com ração suplementada de 0,5% de colesterol e água *ad libitum*. Os mesmos afirmaram que no primeiro momento da avaliação da formação da lesão, ao longo da aorta e da artéria carótida, foram avaliadas em corte transversal, mas que depois dos tecidos limpos, foram abertos longitudinalmente, para medir a área de lesão aterosclerótica e formação de placa nas margens luminal. Em seus resultados, mostraram que foram evidenciadas em animais que consumiram o colesterol da dieta, placas ateroscleróticas em maior quantidade na aorta do que qualquer outro vaso como as carótidas. Os cortes histológicos da aorta, assim como dos outros vasos estudados em nosso estudo experimental, foram realizados em cortes longitudinais, para que fosse apresentada toda a área de espessamento da camada

subendotelial. Como resultado, o arco aórtico apresentou uma camada severa de espessamento no grupo hipercolesterolêmico, já no grupo sinvastatina o espessamento não foi significativo. Nos demais vasos (carótida comum direita e femoral), não foram evidenciados espessamentos.

Marty e colaboradores, assim como, Narayanaswamy afirmaram que além de coelhos, vem sendo utilizada algumas espécies de animais como os mamíferos primatas e não primatas, mas o coelho tem sido um modelo experimental com boa aceitação, pois esses animais apresentam boa disponibilidade para a promoção de lesões aterosclerótica em um intervalo de tempo curto, já ANITSCHIKOW, utilizou coelhos, em seu estudo experimental, para a indução pela primeira vez de aterosclerose, através de dieta hipercolesterolêmica, em seus resultados, a aorta de 90% dos animais apresentaram lesões ateroscleróticas.

Nos experimentos de Martinello, Yang e colaboradores, Yan e Jawien e colaboradores, utilizaram coelhos como modelo experimental, avaliando os efeitos hiperlipidêmicos de compostos naturais e sintéticos, devido à fácil absorção desses animais com relação à dieta altamente gordurosa ou colesterolêmica, como também por desenvolverem lesões em curto período de tempo (seis semanas). Protássio e colaboradores, também utilizaram esses modelos experimentais por apresentarem reatividade vascular diminuída após a instituição da dieta em cerca de dez semanas. Os resultados microscópicos de nosso experimento apresentaram espessamento da camada subendotelial num intervalo de tempo de 99 dias. Nossos resultados foram expressos em porcentagem, onde foram calculadas com regra de três simples. A área foi medida em micras e subtraída da espessura total da parede da mesma região, sem considerar a adventícia.

Junqueira Jr e Ubatuba, assim como, Stahlke e Murdock, afirmaram que o uso de coelhos como modelo experimental se dá pela facilidade da administração de drogas por via oral, por meio de sonda orogástrica ou na água de beber, bem como por outras vias. Injeções intravenosas podem ser feitas com muita facilidade na veia marginal da orelha, pela qual também se pode colher facilmente amostras de sangue para diferentes análises. Em nosso experimento foi utilizada a via de administração oral tanto para a dieta hipercolesterolêmica quanto para o tratamento com a

sinvastatina e como também os puncionamentos para coleta de sangue pela artéria marginal das orelhas dos animais. Durante a administração da dieta os coelhos apresentaram comportamento dentro do esperado, sem regurgitação como também boa aceitabilidade da droga diluída em água destilada.

Smith, Herrera e colaboradores, Manresa e Recedilla, afirmaram em seus estudos que por o metabolismo do coelho ser lento e que dieta gordurosa em excesso não é queimada, e sim armazenada como gordura do corpo. Analisando os resultados de nosso estudo, onde menor peso foi de 2,320kg e o maior de 3,025kg, observou-se que não houve diferença significativa nos intervalos de tempo dentro dos grupos em relação à perda ou ganho de peso.

A dieta oferecida aos coelhos em nosso experimento foi baseada no trabalho de Bernardino e Sousa-Rodrigues, que utilizaram coelhos machos, adultos jovens da raça Nova Zelândia, onde foi oferecido a grupos distintos, dieta composta de 10ml de gema de ovo de Galinha e 1,5g de colesterol puro em um intervalo de tempo de 99 dias e conseqüentemente foram produzidas as lesões ateromatosas nos animais. Para os nossos grupos (G2 e G3), foram oferecidas dietas compostas de 1,5g de colesterol diluído em 10ml de gema de ovo de galinha/dia, ração e água *ad libitum* durante 99 dia, como também em Martinelo e colaboradores, que observaram que os coelhos apresentam facilidade de absorção de dieta gordurosa e que desenvolvem lesões em curto prazo (seis semanas), isso foi confirmado ao término do estudo por análise microscópica. Após aos 99 (noventa e nove) dias, os vasos estudados já apresentaram grande área com espessamento da camada subendotelial.

Dosagens de sinvastatina são descritas por diferentes autores que fizeram trabalhos experimentais, que vão de 20mg/kg/peso/dia a 0,2mg/kg/peso/dia foi utilizada neste estudo a dosagem de 0,3mg/kg/dia de sinvastatina diluída em água 10 ml de água destilada, sendo que a dose de sinvastatina era reajustada a cada 33 dias pelo peso corporal que o animal apresentava.

Segundo Epstein e Campese, assim como, Liao e Laufs, as estatinas tem capacidade de redução do colesterol e que seus efeitos se dão pela redução do LDL - Colesterol havendo concomitantemente, uma discreta elevação do HDL - colesterol,

como também dos triglicerídeos, mas que também os efeitos não-lipídicos, ou seja, os efeitos pleiotrópicos, que citam efeitos antiinflamatórios, antiproliferativo, antitrombótico. Conforme pode ser visto no gráfico de colesterol total, está evidenciado que o grupo controle (G1) manteve praticamente taxas médias de colesterol total durante todo o experimento (dias 33, 66 e 99). Lembrando que esse grupo sofreu influência dos lipídios que contém normalmente na ração, uma vez que a dieta oferecida para esse grupo era normolipídica. Nos 33 dias os grupos G2 e G3 tiveram uma elevação significativa nas taxas de colesterol total em relação ao G1. Nesse período o grupo hipercolesterolêmico G2 estava em fase de adaptação à dieta e o grupo tratado G3 em adaptação à sinvastatina. Com 66 dias os grupos G2 e G3 mantiveram praticamente o mesmo índice de elevação e com 99 dias ocorreu a diminuição significativa de 31% do colesterol do grupo G3 em comparação ao grupo G2.

A administração oral de estatina resulta na redução de 30 a 50% nos níveis plasmáticos do colesterol total e LDL dependendo da potência e dose da estatina usada. Como o receptor hepático de LDL é o principal mecanismo de depuração de LDL e circulante, uma diminuição substancial dos níveis séricos de colesterol é acompanhada do aumento do número de receptores hepáticos de LDL. Deste modo, as estatinas reduzem os níveis séricos de colesterol por dois mecanismos distintos: bloqueio da biossíntese hepática e aumento da depuração do LDL circulante. Além disso, o uso de estatinas também muda o perfil do LDL da forma pequena e densa mais aterogênica, para uma forma menos densa e menos aterogênica LIAO e LAUFS. Diferente do que afirmaram estes autores, em nosso estudo os níveis plasmáticos de LDL se mantiveram sem alterações significantes, durante o intervalo do estudo (33,66, e 99) dias.

Segundo Li e colaboradores, a circulação de colesterol LDL em excesso no sangue, promove a construção da placa de atheroma nas paredes internas das artérias, isso causa estenose da luz do vaso. Os autores, ainda se referem aos altos níveis de HDL, circulante, como sendo benéfico, pois segundo o autor, evita ataques cardíacos ou doenças coronárias. Segundo os mesmos, o HDL age como um limpador que move os lipídios, principalmente o colesterol dos vasos arteriais. Com

isso, ainda explica que a baixa nos níveis de HDL também aumentam o risco de doença cardíaca.

Para os níveis de colesterol – HDL, embora as diferenças em nosso estudo se mostraram estatisticamente não significantes entre os intervalos de tempo, considerando seu efeito biológico, ressaltamos que esse pequeno aumento, foi benéfico para o organismo dos animais. Em nosso estudo ficou evidenciado que o grupo G3, que tomou durante 99 dias 0,3mg/kg/peso de sinvastatina, manteve os níveis de HDL, dentro dos padrões que mostram diversos autores, quando citam que o HDL na presença de doenças hipercolesterolêmicas tem que se manter alto.

O VLDL lipoproteína de muito baixa densidade é produzido no fígado a partir de colesterol e apolipoproteínas. Na corrente sanguínea o colesterol VLDL é convertido em LDL, conhecido como colesterol ruim. Por essa razão alguns autores sinalizam como um parente muito próximo do LDL, tendo como missão, carregar os triglicerídeos. Mas, mesmo que seus níveis estejam elevados. Na análise dessa lipoproteína, nosso estudo mostrou os efeitos da sinvastatina nos intervalos de tempo no G3, mais com diminuição significativa após 99 dias, apresentando porcentagem de 75,4%.

Quanto aos níveis de triglicerídeos, os melhores resultados foram obtidos no intervalo de tempo de 33 (trinta e três) dias, onde apresentou porcentagem de 75,1%, com 66 (sessenta e seis) dias, apresentaram porcentagem de 59,7%. Gonçalves e colaboradores e Quintão, afirmaram que as estatinas são melhores toleradas do que os fibratos e ácido nicotínico, e inferiores quanto à capacidade de elevar os níveis do HDL- colesterol e de reduzirem os triglicerídeos. Em análise de valores encontrados em nosso estudo, em relação ao HDL, os resultados estão dentro do enunciado pelo autor, mas quanto ao triglicerídeo, houve redução estatisticamente significativa. Nenhum dos autores pesquisados descreveu em qual porcentagem a sinvastatina seria capaz de reduzir o espessamento da camada subendotelial arterial, nosso experimento, pudemos evidenciar que essa redução foi de 4,26%.

Levando em consideração o peso do coelho após experimento, Martin e colaboradores perceberam aumento em média de 900 g. Em concordância, o

trabalho de Teloken e colaboradores obtiveram em seus animais experimentais ganho de peso em 620g e com ração acrescida com 0,5% de colesterol mais 4 % de banha animal um ganho de 920 g em 70 dias experimentais. Já Ihara e colaboradores em seu experimento não obtiveram diferença significativa do peso animal e o consumo de ração foi menor após um mês de dieta com colesterol em relação àqueles grupos alimentados com ração comercial. Oportunamente o trabalho de Valiente e colaboradores demonstrou que aumentou em 400 g para os animais tratados com dieta rica em colesterol 0,5%, aumento de 200 g para os tratados com colesterol 1% e para grupo controle teve aumento de 300 g, sem mostrar diferença significativa nestes pesos, da mesma forma Ribeiro e colaboradores em seu trabalho destacaram aumento de peso, em média 200 g, sem ocorrer diferença significativa.

Vale ressaltar que nos diversos trabalhos experimentais, não há uma padronização do peso dos animais, tornando difícil à comparação entre as descrições. Amaral e colaboradores entre 2500 g a 3000 g e Kagan e colaboradores em seu modelo experimental, utilizaram coelhos pesando entre 2500 e 3500 g. É conhecido que os coelhos mais pesados desenvolvem aterosclerose com mais facilidade. Analisando os pesos iniciais e finais dos coelhos em todos os grupos de nosso estudo, ficou evidenciado que apesar da discrepância entre os pesos, de G1, G2 e G3, conforme pode ser visto na tabela 01, no final do estudo não apresentou diferença significativa de peso dentro de cada grupo.

## **7 CONCLUSÃO**

Diante de todo o exposto, pode-se concluir que no modelo experimental utilizando coelhos submetidos à dieta hiperlipídica, o tratamento com sinvastatina durante 99 dias reduz o espessamento da parede arterial e os níveis plasmáticos de colesterol total e de triglicerídeos.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASI, F. et al., High carbohydrate diets, triglyceride-rich lipoproteins, and coronary heart disease risk. **Am J Cardiol.** v. 85, p. 45-8, 2000.

AGUILERA, C.M. et al., Sunflower, virgin-olive and fish oils differentially affect the progression of aortic lesions in rabbits with experimental atherosclerosis. **Atherosclerosis.** v. 162, p. 335–344, 2002.

ALBERTS, A. W. et al., Mevinolin: a highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. **Proc Natl Acad Sci USA.**, v. 77, n. 7, p. 3957-3961, 1980.

ANBINDER, A. L. et al., Anbinder Influence of simvastatin on bone regeneration of tibial defects and blood cholesterol level in rats. **Braz. Dent. J.** v.17, n. 4, 2006.

ANITSCHKOW, N.; CHALATOW, S. Ueber experimentalle cholesterinsteatose und ihre bedeutung für die entstehung einiger pathologischer prozesse. **Centralbl. F. Allgemeine Pathologie Anatomie.** v. 24, p. 1-9, 1913.

AMARAL, D.M. et al., Alterações ósseas vertebrais experimentais em coelhos: efeitos da ação Isquêmica crônica sobre o osso vertebral produzida por lesões ateroscleróticas das artérias intercostais. **Vittale.** v. 4, p.53-55, 1989.

BAIGENT, C. et al., First united kingdom heart and renal protection (UK-HARP I) study: biochemical efficacy and safety of simvastatin and safety of low-dose aspirin in chronic kidney disease. **Am J Kidney Dis.** v. 45, n. 3, p. 473-484, 2005.

BERNARDINO; SOUSA-RODRIGUES, Estudo da aterosclerose induzida por diferentes tipos de dieta hiperlipídica em coelhos albinos (*Oryctolagus cuniculus*), 2008.

BERTOLINI, G. L.; BAZOTTE, R. B. Fármacos Hipolipemiantes. In: CURI, R. et al. Entendendo a gordura - os ácidos graxos. Barueri: [s.n.], v. 1, p. 489-506, 2002.

BRAUNWALD E. The path to myocardial salvage by thrombolytic therapy. *Circulation* 1987;76(suppl II):II-2-II-7

BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. **Annual Review of Biochemistry**, v.52, n. 5, p. 223-261, 1983.

CANNON, C. P.; BRAUNWALD, E. et al., Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. **N Engl J Med**, 2004.

COTRAN, R. S.; SCHOEN F. Vasos sanguíneos. In: COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Patologia estrutural e funcional**. 6 ed. São Paulo: Guanabara Koogan, p. 441-460, 2000.

COLOMÉ, C. et al., Small oxidative changes in atherogenic LDL concentrations irreversibly regulate adhesiveness of human endothelial cells. Effect of the lazaroid U74500A. **Atherosclerosis, Limerick**, v.149, n.2, p. 295-302, 2000.

COSTA, R.P.; MARTINEZ, T.L.R. Terapia nutricional na hipercolesterolemia. **São Paulo: Revista da Sociedade de Cardiologia**, v. 7, n. 4, p. 475-484, 1997.

DING, C. et al., Cardioprotective effects of simvastatin on reversing electrical remodeling induced by myocardial ischemia-reperfusion in normocholesterolemic rabbits. **Chinese Medical Journal**, v.121, n.6, 2008.

IV DIRETRIZ BRASILEIRA SOBRE DISLIPIDEMIAS E PREVENÇÃO DA ATEROSCLEROSE. Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arquivos Brasileiros de Cardiologia - volume 88, suplemento I, abril 2007.

DISLIPIDEMIAS – Tratamento Farmacológico – Vastatinas, Manual de Cardiologia Disponível em <http://www.manuaisdecardiologia.med.br>, Acesso em: junho de 2010.

DUPASQUIER, C.M.C.E. et al., Through antiproliferative and anti-inflammatory actions Dietary flaxseed inhibits atherosclerosis in the LDL receptor-deficient mouse in part., **Am J Physiol Heart Circ Physiol**. v. 293, n. 4, p. 2394-2402, 2007.

DUQUE, F.L.V. Aterosclerose: aterogênese e fatores de risco. **Revista de**

**Angiologia e Cirurgia Vascular.** v.7, p. 50-58, 1998.

EPSTEIN, M.; CAMPESE, V. M. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on renal function. **Am J Kidney Dis.**, v. 45, n.1, p. 2-14, 2005.

FELIPPE JR.; PERCÁRIO S. Uso do EDTA na Prevenção da doença aterosclerótica em coelhos alimentados com ração rica em colesterol. 2001

FIGENBAUM, M; HUTZ M.H. Pharmacogenetic of Lipid-lowering drugs. **Farmacogenética**, v. 39, n. 4, p.543-553, 2006.

FLECKNEL, P.A. Laboratory Animal Anaesthesia, 3 Ed. London, Academic Press, 1992.156p.

GENERT, J.; LIBBY, P.; GOTTO, A.M. Heart Disease. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva.** v.18, n. 4, 2006.

GONÇALVES, M.C.R. et al., Berinjela (*Solanum melongena* L.) mito ou realidade no combate as dislipidemias.: **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 252-257, 2006.

HARVEY, R.A.; CHAMPE, P.C. **Farmacologia Ilustrada**, 2ª edição. Porto Alegre, Artmed, P.470, 1998.

HERRERA, A.P.N.; SANTIAGO, G.S.; MEDEIROS, S.L.S. Importância da fibra na nutrição de coelhos. **Ciência rural**, v. 31, p. 557-561, 2001.

IHARA, S.S.M. et al., Coelhos alimentados com dieta rica em colesterol: modelo experimental para o estudo da aterosclerose. **NewsLab**, n. 27, 1998.

JUNQUEIRA JR, L. F.; UBATUBA, F. B. Espécies de animais empregadas em experimentação laboratorial. Disponível em URL: <http://www.unb.br/fs/clm/labcor/Animalab/Animalab.htm>. 2006.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. P.370.

JUNQUEIRA, L. C. U. **Biologia estrutural dos tecidos: histologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p.122.

KAGAN, H.M.; RAGHAVAN, J.; HOLLANDER, W. Changes in aortic lysyl oxidase activity in diet induced atherosclerosis in the rabbit. **American Heart Association**, v. 1, p. 287-291, 1981.

KENT, K. C. et al., Perioperative imaging strategies for carotid endarterectomy: an analysis of morbidity and cost-effectiveness in symptomatic patients. **Jama**. V. 274, p. 888-893, 1995.

LA ROSA, J.C. et al., Intensive lipid lowering with atorvastatin in patients with stable coronary disease. **N Engl J Med**, v. 352, p.1425-1435, 2005.

LI, M. et al., Effect of clopidogrel on the inflammatory regression of early atherosclerosis in rabbits model. **Atherosclerosis**. V. 194, p. 348–356, 2007.

LIAO, J. K.; LAUFS, U. Pleiotropic effects of statins. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, v. 45, p. 89-118, 2005.

LIBBY, P.; RIDKER, P.M.; MASERI, A. Inflammation and herosclerosis.Circulation,v.105,p. 1135-1143, 2002.

LUZ, P.L.; LAURINDO, F.R.M.; CHAGAS, A.C.P. **Endotélio & doenças cardiovasculares**. São Paulo: Atheneu, 2003, p. 390.

MAGALHÃES, L.B.N.C. **Drogas para uso em dislipidemias**. IN: SILVA, P. Farmacologia 6 ed. Rio de Janeiro. Editora Guanabara Koogan, 202. P.685-691.

MAHAN, L.K; ESCOTT-STUMP, S. **Krause's Food, Nutrition and Diet Therapy**. Singapore: Elsevier, 2004.

MANO, R. Dislipidemias - Tratamento Farmacológico – Vastatinas. Disponível em <http://www.manuaisdecardiologia.med.br/Dislipidemia/Lipid5.htm> (2001).

MANRESA, E.V.; RECEDILLA, P.H. Estudios del Efecto del Clorhidrato de Ticlopidina sobre El Desarrollo de Lesiones Aterosclerosis. **Angiologia**, v. 38, p. 134-149, 1986.

MARTIN, J.F. et al., Platelet and Megakaryocyte changes in Cholesterol-induced Experimental Atherosclerosis. **Arteriosclerosis**, v. 5, p. 604-612, 1985.

MARTINELLO, F. et al., Hypolipemic and antioxidant activities from Tamarindus indica L; pulp fruit extract in hypercholesterolemic hamsters. **Food Chem. Toxicol.** V. 44, n. 6, p. 810-818, 2006.

MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, J; LLORENTE-CORTÉS, V.; BADIMON, L. Biología celular y molecular de las lesiones ateroscleróticas. **Revista Española de Cardiología**, Barcelona, v. 54, n. 2, p. 218-231, 2001.

MARTY B. Endovascular aneurysm repair: from bench to bed. Darmstadt: **Steinkopff Verlag**; 2005.

MIRASSOL, A. Coelhos: Disponível em <http://www.vagueira.com/coelhos.html>. Acesso em: março de 2008.

MOREL, D. W.; LLERA-MOYA, M.; FRIDAY, K. E. Treatment of Cholesterol-Fed Rabbits with Dietary Vitamins E and C Inhibits Lipoprotein Oxidation but Not Development of Atherosclerosis. **Journal of Nutrition, Philadelphia**, v.124, n.11, p.2123-2130, 1994.

MURDOCK, H.R.Jr. **Anesthesia in the Rabbit**. Fed. Proc. 28:1510-16, 1969.

NARAYANASWAMY, M.; WRIGHT, K. C.; KANDARPA, K. Animal models for atherosclerosis, restenosis, and endovascular graft research. **J Vasc Interv Radiol.** V. 11, n. 1, p. 5-17, 2000.

NETO, J. N. Modificações do volume e da histologia de focos de endometriose em

ratas tratadas com sinvastatina **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.** v.29, n. 8, 2007.

NISSEN, S.E. et al., Effect of very high-intensity statin therapy on regression of coronary atherosclerosis: the ASTEROID trial. **JAMA**, v. 295, p.1556-1565, 2006.

NISHIKAWA, O. et al., Effect of Simvastatin on the Lipid Profile of Hemodialysis patients. **Kidney Int**, v. 56, n. 71, p. 219 – 221,1999.

PEREZ, G. et al.,. Acute myocardial infarction case fatality, incidence and mortality rates in a population registry in Gerona, Spain, 1990-1992. **International Journal of Epidemiology**, Oxford, v.27, n. 4, p. 599-604, 1998.

PERON, A.P. Investigação da Citotoxicidade e Mutagenecidade do hipocolesteremiante Sinvastatina em Células de Ratos Wistar e de Allium Cepa L. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 21, n. 2, 2008.

QIAO, Z; REN, J; CHEN, H. Simvastatina 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.

QUINTÃO, E.C.R. Estatinas no tratamento da hipercolesterolemia. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 40, n.1, p. 50-58, 1994.

RANG, H.P. et al. **Farmacologia**. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2003.

RIBEIRO JORGE, P.A. et al., Efeitos dos ácidos graxos ômega - 3 sobre o relaxamento-dependente do endotélio em coelhos hipercolesterolêmicos. **Arq. Bras. Cardiol.** V. 69, p. 13-18, 1997.

RIBEIRO, J. P.A. et al., Efeito da berinjela sobre os lípides plasmático e a reversão da disfunção endotelial na hipercolesterolemia experimental. **Arq. Bras. Cardiol.** V.70, p. 87-91, 1998.

RIBEIRO, J. P.A. et al., Efeitos da atorvastatina, fluvastatina, pravastatica e sinvastatina sobre a função endotelial, a peroxidação lipídica e a aterosclerose

aórtica em coelhos hipercolesterolêmicos. **Arq. Bras. Cardiol.** V. 84, p. 314-319, 2005.

ROBBINS, S. L. et al., **Patologia Estrutural e funcional**. 4ª edição, Guanabara Koogan, 1991.

ROSENFELD, M.E. et al., Fatty streak initiation in the Watanabe heritable hyperlipemic and comparably hipercolesterolemic fat-fed rabbits. **Arteriosclerosis**, v. 7, p. 9-23, 1987.

SALTISSI, D. et al. Safety and efficacy of simvastatin in hypercholesterolemic patients undergoing chronic renal dialysis. **Am j Kidney Dis**, v. 39, n. 2, p. 283-290, 2002.

SANFOORD; COLBY, E.D. effect of xylazine NS Ketmine on blood pressure, heart rat and respiratory rat in rabbits. **Lab Anim.Sci.** v. 30, p.519-523,1980.

SARAIVA, R.A. Modelo exponencial na farmacocinética dos anestésicos inalatórios. **Rev. Bras. Anesthesiol.** V. 28, p. 3-18, 1978.

SCHWENKE, D. C.; CAREW, T. E. Quantification in vivo of increased LDL content and rate of LDL degradation in normal rabbit aorta occurring at sites susceptible to early atherosclerotic lesions. **Circulation Research, Baltimore**, v. 62, n.4, p.699-709, 1987.

SEKALSKA, B. et al., Effect of ibuprofen on the development of fat-induced atherosclerosis in New Zealand rabbits. **Journal of Experimental Animal Science.** V. 43, p. 283–299, 2003.

SILVA, G.E.C. Investigation of Risk Factors to Coronary Heart Disease in Two Countryside Villages. **brazilian archives of biology and technology**, V.47, n. 3, p. 387-390, 2004.

SMITH, S.M.; PEREIRA, R.A.N.V. House rabbit society. Disponível em <http://www.rabbit.org/faq/sections/treat.html>;

STAHLKE Jr, H.J. et al., Hiper - homocisteinemia causando aterogênese na aorta de

coelhos: modelo experimental. **J. vasc.** V. 3, p. 20-30, 2004.

STARY, H. C. The sequence of cell and matrix changes in atherosclerotic lesions of coronary arteries in the first forty years of life. **Eur Heart J.** v. 11, p. 3-19, 1990.

STARY, H.C. Composition and classification of human atherosclerotic lesions. *Virchows Arch. A Pathol. Anat.Histopathol.* v. 421, p. 277-90, 1992.

STARY, H. C. et al., A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v.14, n.5, p.840-856, 1994.

STARY, H. C. Evolution and progression of atherosclerotic lesions in coronary of children and young adults. **Arteriosclerosis**, v. 1, p. 1-32, 1989.

STARY, H.C. et al., Definition of advanced types of atherosclerotic lesions and histological classification of atherosclerosis. **Circulation**, v. 92, p.1355-1374, 1995.

STEBBENS, W.E. An appraisal of cholesterol feeding in experimental atherogenesis. **Prog. Cardivasc. Dis.** V. 29, p.107-128, 1986.

TELOKEN, C. et al., Hypercholesterolemia in rabbit induces increase in thickness of the penile tunica albuginea. **Braz. J. Urol.** V. 26, p. 535-540, 2000.

TSUNG -M. L et al, Effect of simvastatin on left ventricular mass in hypercholesterolemic rabbits. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.** v. 288, p. 1352-1358, 2005.

VALIENTE, M.A.A. et al., Evaluación de um posible modelo experimental de aterosclerosis carotídea em conejos hipercolesterolêmicos. **Rev. Cubana Invest. Biomed.** V. 20, p.192-196, 2001.

VANE, J. R.; ANGGARD, E. E.; BOTTING, R. M. Regulatory functions of the vascular endothelium. **The New England Journal of Medicine**, v. 323, n. 1, p. 27-36, 1990.



VAQUERO M.P. et al., Major diet-drug interactions affecting the kinetic characteristics and hypolipidaemic properties of statins. **Nutr Hosp.** v. 25, n. 2, p. 193-206, 2010.

VOGEL, R. A. Coronary risk factors, endothelial function, and atherosclerosis: a review. **Clinical Cardiology, Mahwah**, v.20, n.5, p. 426-432, 1997.

WILMORE, J. H.; COSTIL, D. L. **Fisiologia do Esporte e do Exercício**. Rio de Janeiro, 2001. 2o. ed. Editora Manole.

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

ZAGO, M. A.; PINTO, A.C.S. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. **Rev. Bras. Hematol.** V. 29, p. 207-214, 2007.

ZHANG, L. et al., Effects of active components of Red Paeonia and Rhizoma chuanxiong on angiogenesis in atherosclerosis plaque in rabbits. **Chin J Integr Med.** v. 15, n. 5, p. 359-64, 2009.