

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

JOSEFA SILEDA MARTINS

**EFEITOS DO ÔMEGA-3 NA PAREDE ARTERIAL DE COELHOS ALBINOS
(*Oryctolagus cuniculus*) SUBMETIDOS À ATEROSCLEROSE EXPERIMENTAL**

Maceió
2011

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

JOSEFA SILEDA MARTINS

**EFEITOS DO ÔMEGA-3 NA PAREDE ARTERIAL DE COELHOS ALBINOS
(*Oryctolagus cuniculus*) SUBMETIDOS À ATEROSCLEROSE EXPERIMENTAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Alagoas – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Célio Fernando de Sousa Rodrigues

Maceió

2011

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

M386e Martins, Josefa Sileda.
 Efeitos do ômega-3 na parede arterial de coelhos albinos (*Oryctolagus cuniculus*) submetidos à aterosclerose experimental / Josefa Sileda Martins. – 2011.
 100 f. : il.

 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. 77-91.
 Apêndices: f. 92-100.

 1. Aterosclerose. 2. Coronariopatia. 3. Ácidos graxos ômega-3.
 4. Coelhos – Dieta hiperlipidêmica. 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 Josefa Sílveda Martins, intitulado: "Efeito do ômega-3 na parede arterial de coelhos albinos (*Oryctolagus cuniculus*) submetidos à aterosclerose experimental", orientada pelo Prof. Dr. Célio Fernando de Souza Rodrigues, apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Alagoas, em 17 de junho de 2011.

Os membros da Banca Examinadora consideraram a candidata APROVADA

Banca Examinadora:

Prof.^a. Dra. Quitéria Maria Wanderley Rocha - (UNCISAL)

Profa. Dra. Daniele Gonçalves Bezerra – (UFAL-ARAPIRACA)

Prof. Dr. Luiz Ferreira de Souza – (ICBS-UFAL)

Confia no Senhor Deus de todo o teu coração e não te estribes no teu próprio entendimento. Reconhece-o em todos os teus caminhos, e ele endireitará as tuas veredas. Não sejas sábio aos teus próprios olhos; teme ao Senhor e aparta-te do mal; será isto saúde para o teu corpo e refrigério para os teus olhos.

*Dedico este trabalho a dois grandes mestres, os professores: **Prof. Dr. Célio Fernando de Sousa Rodrigues e Prof. Dr. Luiz Carlos Buarque de Gusmão**, exemplo de vida e vitória, competência e profissionalismo. A eles, a minha gratidão pelo incentivo, apoio e credibilidade.*

AGRADECIMENTOS

Deus, obrigada por ter me dado o dom da vida, por ter um pai que me ama verdadeiramente. Obrigada ao meu amigo e salvador JESUS, sem Ele não seria capaz de realizar meu ideal, pela sabedoria para lutar com as adversidades, pois não teria condições de realizar esta vitória;

Ao **Prof. Dr. Célio Fernando de Sousa Rodrigues**, meu orientador, obrigada pela confiança, por ter acreditado em mim, pela dedicação e oportunidade em desenvolver este trabalho, minha eterna gratidão e respeito. Obrigada por ter me ajudado num momento tão difícil;

Ao **Prof. Dr. Luiz Carlos Buarque de Gusmão**, meu mentor nos caminhos para o mestrado, obrigada pelo incentivo, ajuda e inspiração que sempre me transmitiu desde a graduação. Meu muito obrigada por tudo, meu respeito e gratidão;

A **Universidade Federal de Alagoas**, pela oportunidade concedida, através do **Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde**, aos docentes e funcionários;

A **Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Alagoas – FAPAL** e **CAPES** pela concessão de bolsa;

A **Universidade Estadual de Ciências e Saúde de Alagoas – UNCISAL**, por ter cedido o biotério para o desenvolvimento da parte experimental deste trabalho;

A equipe do **Centro de Cirurgia Experimental em Biotério – CCEB da Universidade Estadual de Ciências e Saúde de Alagoas – UNCISAL**, pelo desenvolvimento do experimento:

A veterinária **Svetlana Maria Wanderley de Barros Calheiros**, pelas orientações e dedicação com os animais;

A secretária, **Cícera Betânia de Carvalho**, pela ajuda no desenvolvimento do experimento, tornando-se uma amiga e irmã em Cristo, obrigada pelas orações.

Ao assistente de administração **José Ronaldo Soares Bulhões**, pela ajuda na realização dos exames bioquímicos, durante o experimento;

Ao técnico de manejo de animais **Marcelo Roberto Xavier de Melo**, pela ajuda nos ensinamentos de como proceder com os animais;

Ao auxiliar de limpeza **José Amaro da Silva**, *in memoriam* por suas “técnicas” (técnicas) com os cuidados com os animais, na limpeza da sala e no auxílio durante a alimentação dos mesmos;

Ao Centro de Patologia e Medicina Laboratorial da UNCISAL, ao Gerente Geral **Prof Dr. Zenaldo Profírio** e toda equipe pela realização dos exames bioquímicos;

Ao técnico de histologia **Anderson Santos**, do Laboratório de Patologia do Serviço de Verificação de Óbito da UNCISAL, pela ajuda na preparação das lâminas;

Ao grupo de pesquisa em Aterosclerose Experimental: **Prof^a Msc Acácia de Jesus**, a médica **Amanda Bastos**, ao **Prof Msc André Bernardino**, ao estudante de medicina **Daniel Monte** e ao **Prof Rodrigo de Freitas**; Rodrigo, obrigada pela força, pelas ‘dicas’ dadas para este trabalho, você é 10. Obrigada a todos pela construção de novos conhecimentos;

Ao **Prof Ms Graciliano Ramos**, pela revisão dos objetivos e da conclusão do trabalho;

Ao **Prof Ms Lucyo Wagner Torres de Carvalho**, pelas orientações e revisões da estatística;

A **Prof^a Olga Gusmão**, pela correção na escrita do Português;

A **Delma Paes Souza**, técnica do Laboratório de Histologia do Instituto de Ciências Biológicas da Saúde da Universidade Federal de Alagoas, pelas suas orientações na elaboração das lâminas;

Ao **Andiovane Anselmo**, pelas aulas e tradução do Inglês;

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho. OBRIGADA!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Aos meus pais **Odete Tibúrcio Martins** e **Manoel Martins** *in memoriam*, pelo amor, dedicação e sacrifício por ensinarem a valorizar o conhecimento e, através dele, escolher o caminho a seguir;

Aos meus irmãos: **Socorro, Suely, Solon, Suelene, Sílvio, Sílvia** e meu cunhado **Valdir** e todos os sobrinhos, pela ajuda, que vocês me deram, que as adversidades nunca nos separem;

Aos meus amigos **Everaldo e Maryele** que durante a graduação e especialização, estiveram juntos torcendo por mim;

A minha amiga de infância **Marilúcia Palmeira**, que esteve orando por mim em todas as etapas deste trabalho, a distância não foi capaz de nos separar;

A minha irmã em Cristo **Gercina Eleuterio**, que esteve me ajudando em oração e com as 'marmitas', nas horas que mais precisei. Obrigada 'colega'.

A minha amiga **Geane Castro**, obrigada pelas mensagens de encorajamento que chegavam a momento oportuno.

Aos irmãos e irmãs da Igreja Batista do Feitosa, em especial do Culto Matutino, que estiveram orando por mim, suas orações Deus ouviu;

Aos colegas de turma, em especial a **Mônica Torres**, minha conterrânea, uma pessoa maravilhosa, obrigada pelas caronas, onde trocamos figurinhas, as preocupações com a tese. A todos que juntos compartilhamos momentos de estresses, de alegria e construímos amizades.

RESUMO

O ômega-3 é um ácido graxo nutracêutico, que tem sido utilizado para prevenir as doenças cardiovasculares, das quais a aterosclerose é a principal causa de morbidade e mortalidade, tornando o infarto do miocárdio e o acidente vascular encefálico suas principais consequências. **Objetivo:** Este trabalho teve como objetivos verificar a existência de efeitos preventivos do ômega-3 na formação da doença aterosclerótica, através da indução de dieta hiperlipidêmica em coelhos, quantificar o comprometimento aterosclerótico da luz arterial bem como, analisar os níveis lipídicos séricos (colesterol total, frações, triglicérido e HDL). **Material e Método:** 21 coelhos albinos, machos da raça Nova Zelândia foram distribuídos aleatoriamente em três grupos com sete animais, a saber: Grupo Controle (G1) cujos animais receberam ração e água *ad libitum*; Grupo Hiperlipidêmico (G2) ração e água *ad libitum*, mais 20 ml de gema de ovo de galinha em dividida em duas tomadas e o Grupo Tratado (G3) que além dos 20 ml de gema, ingeriu 221 mg/kg/peso de ômega-3, bem como ração e água *ad libitum*. O sangue foi coletado para verificar os níveis séricos e após 99 dias de experimento, os animais foram submetidos à eutanásia para retirada dos seguintes fragmentos: arco aórtico, artéria carótida comum direita e artéria femoral direita. Os resultados foram comparados pelos métodos estatísticos ANOVA, e teste de Kolmogorov-Smirnov. **Resultados:** Não houve diminuição dos níveis séricos do colesterol total, e frações, o triglicérido e não aumentou o HDL. Houve espessamento da camada subendotelial e formação de células espumosas, nos grupos G1 e G2. **Conclusão:** O ômega não tem efeito preventivo na redução das placas ateromatosas, houve aumento do comprometimento da luz arterial em 57,55%.

Palavras chaves: Aterosclerose. Coelho. Ácidos graxos Omega-3. Dieta hiperlipidêmica. Coronariopatia.

ABSTRACT

The nutraceutical omega 3 fatty acid, which has been used to prevent cardiovascular disease; on the other hand, atherosclerosis is the leading cause of morbidity and mortality, becoming myocardial infarction and strokes the main consequences.

Objective: This study aimed to verify the preventive effects of omega-3 in the formation of atherosclerosis, inducing hyperlipidemic diet in rabbits to quantify the atherosclerotic involvement of the arterial lumen and to evaluate serum lipid levels (total cholesterol, fractions, triglycerides and HDL). **Methods:** 21 male rabbits New Zealand white race were randomized into three groups with seven animals, namely: control group (G1) where the animals received food and water ad libitum; group hyperlipidemic (G2) food and water ad libitum, 20 ml of chicken egg yolk divided in two doses and treated group (G3) that in addition to 20 ml of yolk, ingested 221 mg / kg body weight of omega-3 as well as food and water ad libitum. The blood was collected to determine serum and after 99 days of the experiment, animals were euthanized for removal of debris following: aortic arch, right common carotid artery and right femoral artery. The results were compared using statistical methods of ANOVA, and Kolmogorov-Smirnov. **Results:** There was no decrease in serum total cholesterol and fractions, and triglyceride did not increase HDL. There was thickening of the sub endothelial layer and formation of foam cells in G1 and G2. **Conclusion:** The Omega has no preventive effect in reducing atherosclerotic plaques; there was increased in the arterial lumen at 57.55%

Key words: Atherosclerosis. Rabbit. Omega-3 Fatty Acids. Hyperlipidemic diet. Coronariopathies.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – 10 mL de gema em seringa de 20 mL.....	44
FIGURA 2 – Dose do ômega-3 em seringa de 1mL.....	44
FIGURA 3 – Método de administração na alimentação da gema de ovo.....	45
FIGURA 4 – Coelho imobilizado para coleta de sangue.....	46
FIGURA 5 – Artéria auricular central, onde o sangue foi coletado (seta).....	46
FIGURA 6 – Coelho Grupo G1 – Artéria Carótida Comum Direita (seta).....	48
FIGURA 7 – Coelho Grupo 2 - Arco Aórtico.....	48
FIGURA 8 – Coelho Grupo 3 - Artéria Femoral Direita (seta).....	49
FIGURA 9 – Grupo 1 – Arco Aórtico sem espessamento subendotelial.....	58
FIGURA 10 – Grupo 1 – Artéria Femoral Direita sem espessamento endotelial (seta) 4X.....	58
FIGURA 11 – Grupo 1 – Artéria Carótida Comum Direita sem espessamento endotelial (seta) 4X	59
FIGURA 12 – Grupo 2 – Arco Aórtico com espessamento subendotelial (seta) 4X	59
FIGURA 13 – Grupo 2 – Arco Aórtico com células espumosas (seta) 4X.....	60
FIGURA 14 – Grupo 3 – Arco Aórtico com células espumosas (seta) 4X.....	60
FIGURA 15 – Grupo 3 – Arco Aórtico com espessamento subendotelial (seta) 4X	61
FIGURA 16 – Grupo 2 – Artéria Carótida Comum Direita (seta) 4X.....	61
FIGURA 17 – Grupo 3 – Artéria Carótida Comum Direita (sete) 4X.....	62

FIGURA 18 – Grupo 2 – Artéria Femoral Direita sem espessamento.....	62
Subendotelial (seta) 4X	
FIGURA 19 – Grupo 3 – Artéria Femoral Direita sem espessamento.....	
Subendotelial (seta) 4X	63

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Média e desvio padrão do peso dos animais.....	56
TABELA 2 – Média e desvio padrão dos níveis do colesterol total.....	56
TABELA 3 – Média e desvio padrão dos níveis do LDL dos animais.....	56
TABELA 4 – Média e desvio padrão dos níveis do VLDL.....	56
TABELA 5 – Média e desvio padrão dos níveis do HDL.....	57
TABELA 6 – Média e desvio padrão dos níveis dos triglicerídeos.....	57
TABELA 7 – Média em percentual de espessamento da camada subendotelial do arco aórtico em micrômetro no grupo hiperlipidêmico.....	63
TABELA 8 – Média em percentual de espessamento de camada subendotelial do arco aórtico em micrometro (μm) no grupo tratado (G3).....	63

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 –Peso dos animais 0 dia.....	50
GRÁFICO 2 – Peso dos animais aos 33 dias.....	50
GRÁFICO 3 – Peso dos animais aos 66 dias.....	50
GRÁFICO 4 – Peso dos animais aos 99 dias.....	50
GRÁFICO 5 – Taxa do Colesterol total 0 dias.....	51
GRÁFICO 6 – Taxa do Colesterol total aos 33 dias.....	51
GRÁFICO 7 – Taxa do Colesterol total aos 66 dias.....	51
GRÁFICO 8 – Taxa do Colesterol total aos 99 dias.....	51
GRÁFICO 9 – Taxa do LDL antes do experimento.....	52
GRÁFICO 10 – Taxa do LDL aos 33 dias.....	52
GRÁFICO 11 – Taxa do LDL aos 66 dias.....	52
GRÁFICO 12 – Taxa do LDL aos 99 dias.....	52
GRÁFICO 13 – Taxa do VLDL 0 dia.....	53
GRÁFICO 14 – Taxa do VLDL aos 33 dias.....	53
GRÁFICO 15 – Taxa do VLDL aos 66 dias.....	53
GRÁFICO 16 – Taxa do VLDL aos 99 dias.....	53
GRÁFICO 17 – Taxa do HDL 0 dias.....	54
GRÁFICO 18 – Taxa do HLDL com 33 dias.....	54

GRÁFICO 19 – Taxa do HDL aos 66 dias.....	54
GRÁFICO 20 – Taxa do HDL aos 99 dias.....	54
GRÁFICO 21 – Taxa de Triglicerídeo 0 dia.....	55
GRÁFICO 22 – Taxa de Triglicerídeo aos 33 dias.....	55
GRÁFICO 23 – Taxa de Triglicerídeo aos 66 dias.....	55
GRÁFICO 24 – Taxa de Triglicerídeo aos 99 dias.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS

AG – Ácido Graxo

AGPI – Ácidos graxos poli-insaturados

ANOVA – Análise de Variância

AHA – American Heart Association

CT – Colesterol total

DHA – Ácido docosahexaenoico

EPA – Ácido eicosapentaenoico

G1 – Grupo Controle

G2 – Grupo Hiperlipidêmico

G3 – Grupo Tratado

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

HDL – Lipoproteína de alta densidade

TG – Triglicerídeo

VLDL – Lipoproteína de densidade muito baixa

UNCISAL – Universidade Estadual de Ciências e Saúde de Alagoas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	OBJETIVOS	22
2.1	Objetivo Geral	22
2.2	Objetivos Específicos	22
3	REVISÃO DE LITERATURA	23
3.1	Etiologia da Aterosclerose	23
3.2	Classificação Anatomopatológica das Lesões Ateroscleróticas	25
3.2.1	Lesão do Tipo I.....	25
3.2.2	Lesão do Tipo II.....	25
3.2.3	Lesão do Tipo III.....	26
3.2.4	Lesão do Tipo IV.....	26
3.2.5	Lesão do Tipo V.....	27
3.2.6	Lesão do Tipo VI.....	27
3.3	Dislipidemia e Aterosclerose	28
3.4	Fisiopatologia da Formação da Placa Aterosclerótica	30
3.5	Dieta Hiperlipidêmica e Aterosclerose	32
3.6	Ácido Graxo Ômega-3	35
3.6.1	Ômega-3 nutracêutico.....	36
3.6.2	Efeito do ômega-3.....	37

3.6.3	Dosagem ômega-3.....	40
4	MATERIAL E MÉTODO.....	42
4.1	Amostra.....	42
4.2	Randomização da Amostra.....	42
4.3	Dieta.....	42
4.4	Dieta Hiperlipidêmica.....	44
4.5	Coleta para Dosagem Bioquímica.....	45
4.6	Procedimentos para Eutanásia.....	47
4.7	Análise Histopatológica.....	47
4.8	Análise Estatística.....	49
5	RESULTADOS.....	50
5.1	Peso dos Animais.....	50
5.2	Taxa de Colesterol Total e suas Frações.....	51
5.2.1	Colesterol Total.....	51
5.2.2	LDL-colesterol.....	52
5.2.3	VLDL-colesterol.....	53
5.2.4	HDL-colesterol.....	54
5.2.5	Triglicerídeos.....	55
5.2.6	Análise dos lipídeos em Média e Desvio Padrão.....	56
5.3	Análise Anatomopatológica.....	57

6	DISCUSSÃO.....	65
6.1	Aterosclerose.....	65
6.2	Dieta Hiperlipidêmica no Processo da Aterosclerose.....	66
6.3	Análise Histopatológica da Formação da Placa Aterosclerótica.....	68
6.4	Ômega-3 na Prevenção da Aterosclerose.....	70
7	CONCLUSÃO	76
	REFERÊNCIAS.....	77
	APÊNDICES	92

1 INTRODUÇÃO

O termo aterosclerose foi criado para diferenciar um tipo especial de arteriosclerose, que acompanha um depósito gorduroso, sendo o mais importante, pois as placas ateromatosas levam à oclusão da artéria, e à instalação de várias síndromes isquêmicas graves como infarto do miocárdio e encefálico (PORTO; RASSI; LEITE, 1981; DUQUE, 1998).

A doença cardiovascular é considerada a principal causa de morte em nosso país, cerca de 30% dos óbitos para todas as faixas etárias, sendo o acidente vascular cerebral a primeira causa de morte, seguido da doença isquêmica do coração (SANTOS FILHO; MARTINEZ, 2002). Em 2002, ocorreram 85.599 óbitos, correspondendo a um terço da mortalidade total do País, tendo como principal mecanismo etiopatogênico o processo da aterosclerose (AFIUNE NETO et al., 2006; ROSINI; MACHADO; XAVIER, 2006).

A aterosclerose e suas complicações trombóticas predominam entre as causas de morbidade e mortalidade, principalmente no mundo ocidental sendo a principal causa de morte (HANSSON; NICOLETTI, 2001; SERRANO JUNIOR; SOUZA; PAIVA, 2001; GOMES; CARMO, 2006). A doença arterial obstrutiva periférica promove limitação funcional, em consequência da isquemia caracterizada pela formação de placas de ateroma nas artérias e está associada a alto risco de morbimortalidade cardiovascular (DURAZZO et al., 2005; LICHTENFELS et al., 2007)

Entre os fatores de risco para o desenvolvimento da aterosclerose estão às taxas elevadas de lipídeos, principalmente as LDL (lipoproteínas de baixa densidade) que tem ocupado um papel de destaque na etiologia da aterosclerose, assim como a hipercolesterolemia, combinada com o crescimento dos níveis de colesterol e triglicérides (DURRINGTON, 2003; VILARIÑO; ESPER; BADIMÓN, 2004; GOTTLIEB; BONARDI; MORIGUCHI, 2005). Além de histórico familiar, sexo masculino, idade avançada e a dislipidemia, estão a hiperlipidemia, a hipertensão, a diabetes e o tabagismo, que desempenham papéis importantes na incidência e na progressão da doença (ORR et al., 2005; LICHTENFELS et al., 2007; SANTOS; BORTOLOZO, 2008).

Em estudos experimentais, clínicos e epidemiológicos foi informado que o ômega-3 protege contra a aterosclerose coronariana e morte súbita (URQUIAGA, 2004). Porém nem todos os indivíduos com fatores de risco aterogênico, como a hipercolesterolemia, desenvolvem a aterosclerose (SHI et al., 2005). Um dos fatores nutricionais influentes para a aterosclerose é o consumo de uma dieta rica em ácidos graxos saturados, estes compostos podem aumentar o nível de colesterol (DE LA CRUZ et al., 1997).

Pesquisas realizadas em esquimós da Groenlândia, com a ingestão de ômega-3, provaram a proteção contra doenças cardiovasculares, em que houve uma baixa significativa do colesterol total, lipoproteína de baixa densidade e dos triglicerídeos (SCHWALFENBERG, 2006). Para esta pesquisa foi utilizado um nutracêutico o óleo de peixe ácido graxo poli-insaturado ômega-3 que não pode ser produzido endogenamente pelos seres humanos, sendo oriundo apenas de dieta. Os óleos de peixe são poli-insaturados; ricos em ácidos docosahexaenóico (DHA) e ácido eicosapentanóico (EPA) (HYRAYAMA et al., 2006).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

Verificar a existência dos efeitos do ômega-3 na formação da doença aterosclerótica, por meio da indução de dieta hiperlipidêmica em coelhos.

2.2 Objetivos Específicos:

Analisar o efeito do ômega-3, utilizando o modelo de aterosclerose experimental de Santos (2008) nos seguintes aspectos:

- ✓ Induzir a dieta hiperlipidêmica, com gema de ovo de galinha;
- ✓ Quantificar o comprometimento aterosclerótico da luz arterial;
- ✓ Nos níveis lipídicos séricos (colesterol total, frações e triglicérido)

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Etiologia da Aterosclerose

Considerada uma patologia complexa, a aterosclerose ocorre em artérias de grande e médio calibre, tendo como localizações as coronárias, carótidas e aorta (HANSSON, 2001; MA et al., 2008; DIJK et al., 2010) sendo a aorta a que mais aparece nas alterações de aterosclerose precoce (OLIVEIRA, 1984).

Essa é caracterizada pela migração e proliferação de células musculares lisas e endoteliais, presença de células inflamatórias; levando à formação de depósito com placas amarelas, que contêm colesterol, lipídeos e células espumosas para o revestimento interno da artéria na formação de trombo e calcificação de forma que as lesões avançadas podem obstruir a luz do vaso (HANSSON, 2001; FRANÇOSO; COATES, 2002; HILTUNEN et al., 2002; ARAB et al., 2003; SEYAMA; WACHI, 2004; HOWARD-ALPE; SEAR; FOEX, 2006; NOBRE et al., 2006; RAUDALES et al., 2006; SWIRSKI et al., 2006; ZHAO, 2007; ZOHDI; HOLZAPFEL; BERGER, 2007; BAMPI et al., 2009; HAHN; SCHATZ, 2009; ABDELHALIM; ALHADLAQ; MOUSSA, 2010; TZIAKAS et al., 2010)

A aterosclerose é a principal causa de morbidade nos países desenvolvidos: como um dos mais significativos problemas de saúde devido à taxa de mortalidade elevada (CARVAJAL; ÂNGULO, 1997; SHIKATU, 2004; GIROLDO et al., 2007; GROSS et al., 2007; ZANDBERGEN; PLUTZKY, 2007; MA et al., 2008; RIBEIRO; WANG et al., 2008) comprometendo artérias por complicações aterotrombóticas, sendo a causa mais frequente de ataque cardíaco e de acidente vascular cerebral (SANTOS et al., 2003; ARAÚJO, 2007; RAMAN et al., 2007; KOLANKIEWICZ et al., 2008; BAMPI et al., 2009; ROBINSON et al., 2009; BENTZON; DIJK et al., 2010; FALK, 2010).

O desenvolvimento da aterosclerose é lento. Com início precoce, a agressão ao endotélio vascular é devida a diversos fatores de risco como: elevação de lipoproteínas aterogênicas, hipertensão arterial ou tabagismo, e tem o ateroma como característica do depósito de lipídeos na camada íntima da artéria, (OLIVEIRA et al., 1996; ARAB et al., 2003; JONGSTRA-BILEN, 2006; BRAGA; BARLETA, 2007;

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007; LAI et al. 2009).

A formação de lesão e estreitamento luminal podem, por sua vez, diminuir a luz das artérias gradualmente, e assim as romper, conduzindo à formação de trombos e oclusão da luz arterial; sendo mais caracterizada pelo seu desenvolvimento focal em grandes artérias de regiões definidas, como bifurcações, que produzem padrões de fluxo complexo (HASTINGS et al., 2007; HAHN; SCHWARTZ, 2009). Frequentemente, o local mais afetado são as artérias que suprem o coração (RIBEIRO; SHIKATU 2004) sendo responsáveis por 95% das coronariopatias (VENÂNCIO; BURINI; YOSHIDA, 2004).

A aterosclerose é considerada uma doença inflamatória crônica de origem multifatorial; ocorre em resposta à agressão endotelial, acometendo principalmente a camada íntima das artérias, provocando a formação da lesão, e resultando na primeira etapa da aterosclerose (HILTUNEN et al., 2002; WADDINGTON et al., 2003; HUR et al., 2005; KHARBANDA; MACALLISTER, 2005; GALKINA et al., 2006; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007; MA et al., 2008; CHUMAEVA, et al., 2010).

O processo aterosclerótico causa alteração no funcionamento do endotélio vascular, sendo considerado como extremamente dinâmico e progressivo, resultante da combinação entre a disfunção endotelial e a inflamação (DENARDI et al., 2008; CHUMAEVA et al., 2010). Sendo um processo que está relacionado a uma resposta inflamatória crônica da parede arterial, cuja progressão é mantida pela interação entre as lipoproteínas modificadas, macrófagos derivados de monócitos, linfócitos T e constituintes celulares normais da parede arterial, que contribuem para o crescimento e desenvolvimento da placa, e finalmente sua ruptura (CHEN; CHANG; JIANG, 1999; COTTIN et al., 2001; MASSBERG et al., 2002; HOWARD-ALPE; SEAR; FOEX, 2006; RAUDALES et al., 2006; CASTRO et al., 2007; LITTE; BALLINGER; OSMAN, 2007; ZANDBERGEN; PLUTZKY, 2007; ABDALLA; SENA, 2008; YUSOF; MILES; CALDER, 2008; HYAFIL et al., 2009; DORNAS et al., 2010; TZIAKAS et al., 2010).

3.2 Classificação Anatomopatológica das Lesões Ateroscleróticas

A primeira classificação de aterosclerose foi realizada pela Organização Mundial da Saúde em 1958, que se baseou na seguinte sequência: estrias gordurosas, ateroma, placa fibrosa e lesão complicada. Em 1990, a American Heart Association (AHA) propôs uma nova classificação morfológica com base em oito tipos de lesões (GAUDIO et al., 2006) porém, a classificação das lesões ateroscleróticas proposta por Stary et al. (1995) foi adotada pela AHA, classificando em seis fases na história natural da aterosclerose (GIANNINI, 2000).

3.2.1 Lesão do Tipo I

A lesão do tipo I ocorre com o espessamento adaptativo medial do vaso (COTTIN et al., 2001) e consiste de pequenos depósitos lipídicos na íntima, aparecendo como listas amarelas na parede do vaso, sendo descritas como “Estrias gordurosas” consistindo de macrófagos repletos de colesterol, derivado principalmente do LDL, sendo visível a olho nu (KHARBANDA; MACALLISTER, 2005; ASGARY; SABERI; AZAMPANAH, 2007; MISSEL, et al., 2009).

Foi observado que, em coelhos hipercolesterolêmicos, 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 (GIANNINI, 2000; FRANÇA; FRANÇA, 2001; SETORKI et al., 2009; DORNAS et al., 2010). A lesão consiste de alteração funcional da célula endotelial sem alterações morfológicas evidentes, como ocorre no início da formação da placa (FARIA NETO; CHAGAS; LUZ; 1999). O acúmulo de monócitos na íntima caracteriza estrias gordurosas, visível na aterosclerose humana e experimental (STARY et al., 1995; SWIRSKI, 2006).

3.2.2 Lesão do Tipo II

As lesões do tipo II consistem em células espumosas dispostas em camadas estratificadas adjacentes. Nesse tipo de lesão as células musculares lisas os macrófagos e os linfócitos, contêm gotículas lipídicas (COTTIN et al., 2001; FRANÇA; FRANÇA, 2001). As constituídas de camadas de macrófagos, células espumosas e lipídios carregados de células musculares lisas, incluem lesões

grosseiras, formando placas gordurosas (STARY et al., 1995; ASCARY; SABERI; AZAMPANAH, 2007; MISSEL et al., 2009) em que há o desnudamento endotelial e lesão da íntima, sem comprometimento da lâmina elástica interna (FARIA NETO; CHAGAS; LUZ, 1999). O acúmulo de lipoproteínas na íntima; lipídios em macrófagos e em células musculares lisas são considerados em dois subtipos: II-a e II-b (GIANNINI, 2000).

3.2.3 Lesão do Tipo III

As características clássicas de lesões do tipo III são o espessamento de lipídios extracelulares, e esse pode progredir para o avanço do tipo de lesões IV e V (KHARBANDA; MACALLISTER, 2005). Esse tipo é classificado como patológico, com espessamento da íntima por uma placa mal formada e fibrosa, além da ausência de um núcleo necrótico (VIRMANI et al., 2000).

A lesão do tipo III é uma fase intermediária entre o tipo II e o IV, e contém acúmulo de gotículas lipídicas extracelulares e partículas que prejudicam a coerência íntima de algumas células do músculo liso (STARY et al., 1995). Chamada de pré-ateroma contém maior quantidade de lipídeo extracelular, formando núcleos lipídicos (COTTIN et al., 2001; ASCARY; SABERI; AZAMPANAH, 2007); com comprometimento da camada íntima e da média (FARIA NETO; CHAGAS; LUZ, 1999), e depósitos extracelulares de lipídeos; evidências de dano e desordem tecidual (GIANNINI, 2000) além de conter uma maior quantidade de colesterol livre, ácidos graxos, e triglicerídeos (FRANÇA; FRANÇA, 2001).

3.2.4 Lesão do Tipo IV

As lesões do tipo IV são caracterizadas como ateroma, onde os depósitos lipídicos unem-se para formar um núcleo lipídico extracelular (FRANÇA; FRANÇA, 2001; KHARBANDA; MACALLISTER, 2005). Essa lesão possui núcleo lipídico individualizado, formado pela fusão das ilhotas de gorduras das lesões do tipo III, além de possuir macrófagos, gorduras (ASCARY; SABERI; AZAMPANAH, 2007) e espessamento do núcleo lipídico extracelular (COTTIN et al., 2001).

Existe a confluência do conteúdo de lipídios para um único núcleo, mas sem a formação de capa fibrosa (FARIA NETO; CHAGAS; LUZ, 1999; VIRMANI et al.,

2000). O acréscimo de massa de lipídeos extracelulares forma um núcleo de gordura, com acentuado dano estrutural da íntima (GIANNINI, 2000). Os lipídeos extracelulares são os precursores imediatos do núcleo lipídico extracelular (STARY et al., 1995).

3.2.5 Lesão do Tipo V

A presença de tecido fibroso é necessária para a definição de lesões do tipo V (COTTIN et al., 2001; KHARBANDA; MACALLISTER, 2005) que são mais maduras, com formação da capa fibrosa. Posteriormente, as lesões maduras, com calcificação extensa, foram reclassificadas como V-b, e as lesões com extenso tecido fibroso e pouco lipídico, como V-c (FARIA NETO; CHAGAS; LUZ, 1999). A presença de tecido fibroso envolve o núcleo lipídico e subdivide-se em 3 subtipos: lesão V-a — fibroateroma, com capa fibrótica, envolvendo o núcleo lipídico; a lesão V-b — placa calcificada, com presença de cálcio no componente fibrótico ou mesmo no núcleo lipídico; e as lesões V-c — com tecido fibrótico com ausência de núcleo lipídico (ASGARY; SABERI; AZAMPANAH; 2007).

As lesões do tipo V começam por volta da quarta década de vida. Essas, geralmente, têm um núcleo lipídico, que também pode conter uma camada grossa de tecido fibroso. São lesões em grande parte calcificadas — tipo V-b — e algumas consistem principalmente de tecido conectivo fibroso e pouca ou nenhuma acumulação lipídico ou cálcio — tipo V-c (STARY et al., 1995) é o fibroateroma, associado ao desenvolvimento de camadas de colágeno e de células musculares lisas, que se colocam sobre o núcleo de lípidos (GIANNINI, 2000). Trata-se de ateroma com cápsula fibrosa espessa, e com células que cobrem uma grande parte de massa necrótica gorda (VIRMANI et al., 2000).

3.2.6 Lesão do Tipo VI

É classificada como o tipo de lesão complicada, formada por trombo, fissura, hemorragia ou erosão — essas são a causa dos eventos coronarianos isquêmicos agudos. As placas avançadas podem sofrer hemorragia ou trombose (KHARBANDA; MACALLISTER, 2005). Há complicação quando existe remodelamento positivo do vaso, presença de um núcleo lipídico, capa fibrótica fina e presença de grande quantidade de células inflamatórias (FARIA NETO; CHAGAS; LUZ, 1999; GIANNINI,

2000; COTTIN et al., 2001). São placas com lesões — mostrando ruptura da superfície luminal, com hematoma ou hemorragia — sendo definidas como ateroma fibroso (VIRMANI et al., 2000) associadas à presença de material trombótico, hematoma, erosão ou fissura (GIANNINI, 2000).

3.3 Dislipidemia e Aterosclerose

A aterosclerose está associada a anormalidades lipídicas; ativação plaquetária; trombose; inflamação; disfunção endotelial; estresse oxidativo, entre outros distúrbios (SIGNORI et al., 2006). É caracterizada por alterações metabólicas inflamatórias com acúmulo de lipídios na artéria (SEYAMA; WACHI, 2004). Os lipídios na dieta desempenham um papel importante na bioquímica dos tecidos vasculares (HUR et al., 2005) em que a principal causa é a obstrução do fluxo de sangue nos vasos sanguíneos, em virtude da formação da placa de gordura (LAMARÃO; NAVARRO, 2007) que afeta todas as artérias (BAMPI et al., 2009).

Os níveis de colesterol plasmáticos variam conforme a idade e sexo, iniciando sua produção com o nascimento, mostrando leve depressão na adolescência e sofrendo elevação na idade adulta. As mulheres costumam apresentar menores níveis de colesterol, quando comparadas a homens da mesma idade (MELO; FRÉZ; FRÉZ, 2008). A concentração das lipoproteínas LDL e HDL, na corrente sanguínea, além de estar relacionada com o perfil genético, também é influenciada por hábitos alimentares (GIROLDO; ALVES; BAPTISTA, 2007; KOLANKIEWICZ; GIOVELLI; BELLINASSO, 2008).

As lipoproteínas têm papel importante na patogênese do dano vascular aterosclerótico, levando a complicações vasculares e/ou eventos isquêmicos em diferentes artérias (KUNSTMANN; GAINZA, 2006) e estão intimamente relacionadas ao desenvolvimento de placas ateroscleróticas, embora o colesterol seja o principal componente da placa de ateroma (FREITAS, 2004; SANTOS; BORTOLOZO, 2008). A alta concentração de colesterol total, triglicerídeos e LDL, e uma baixa concentração plasmática de HDL são considerados importantes fatores de risco para a expressão da doença coronária (CASTRO et al., 2005) sendo o HDL inversamente relacionado com o risco de eventos ateroscleróticos, por possuir atividade anti-aterogênica, sendo mais preventivo (KAUR; BANSAL, 2009).

As dislipidemias primárias, ou sem causa aparente, podem ser classificadas genotipicamente ou fenotipicamente por meio de análises bioquímicas — considera-se os valores do CT, LDL, TG e HDL. Compreende-se quatro tipos principais bem definidos em hipercolesterolemia isolada, hipertrigliceridemia isolada, hiperlipidemia mista e diminuição isolada do HDL, ou associada ao aumento dos trigliceróis ou LDL (CASTRO et al., 2004; CHACRA; DIAMENT; FORTI, 2005).

Quadro 1 - Valores de referência para o diagnóstico de dislipidemias em adultos

Lipídios	Valores	Categoria
CT	<200	Ótimo
	200-239	Limítrofe
	≥240	Alto
LDL-c	<100	Ótimo
	100-129	Desejável
	130-159	Limítrofe
	160-189	Alto
	≥190	Muito alto
HDL-c	<40	Baixo
	>60	Alto
TG	<150	Ótimo
	150-200	Limítrofe
	200-499	Alto
	≥500	Muito alto

Fonte: Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2007

O principal fator desencadeador da aterosclerose é caracterizado como alterações qualitativas e/ou quantitativas dos lipídeos e lipoproteínas sanguíneas, que podem acontecer em decorrência de vários fatores, sendo a dieta a mais importante (BRAGA; BARLETA, 2007). Os mecanismos pelos quais as diversas lipoproteínas se relacionam com as doenças cardiovasculares são complexos, envolvendo a formação de células espumosas, resposta inflamatória, alterações do endotélio e placas ateroscleróticas (CASTRO; BARROSO; SINNECKER, 2005). Sendo o acúmulo extracelular de lipídios e colesterol uma reação inflamatória, que desempenha um papel importante na iniciação e progressão de um processo patológico em uma doença aguda (MASSARO et al., 2010).

Essencialmente, a LDL em excesso se acumula na camada íntima da artéria, induzindo a uma série de eventos bioquímicos e biomecânicos, envolvidos no desenvolvimento da lesão da placa aterosclerótica (ZOHDI; HOLZAPFEL; BERGER,

2004). E por apresentar menor densidade, é transportada contiguamente à parede vascular do vaso sanguíneo, o que favorece sua ligação ao endotélio vascular, após alterações oxidativas, contribuindo para a progressão da doença aterosclerótica (GIROLDO; ALVES; BAPTISTA, 2007).

Existe evidência de que os níveis elevados de CT, LDL e triglicérideo, assim como os níveis baixos de HDL aumentam o risco cardiovascular — entre os fatores de risco, o mais importante são os bioquímicos, como lipídeos e marcadores de inflamação (CARVAJAL; ÂNGULO, 1997; FREITAS, 2004; SHI et al., 2005; KUNSTMANN; GAINZA, 2006; MELO; FRÉZ; FRÉZ, 2008; YUSOF; MILES; CALDER, 2008). Portanto o HDL exerce efeito protetor contra o desenvolvimento da aterosclerose, contribuindo para o transporte reverso de colesterol das células para o fígado; inibição da oxidação e agregação da LDL, e prevenção do dano vascular causado pelas LDL oxidadas, promovendo uma diminuição na morbimortalidade da doença arterial coronariana (GIROLDO; ALVES; BAPTISTA, 2007; SANTOS; BORTOLOZO, 2008).

3.4 Fisiopatologia da Formação da Placa Aterosclerótica

Evidências anatomopatológicas indicam que a formação da placa aterosclerótica normalmente leva décadas para se desenvolver (CHEN; CHANG; JIANG, 1999), inicia-se na infância e progride lentamente até a vida adulta (ROMALDINI et al., 2004; NOBRE et al., 2006). Em modelo experimental com animal, o desenvolvimento é relativamente curto (CHEN; CHANG; JIANG, 1999) sendo difícil identificar os fatores responsáveis pela iniciação — a ordem em que esses fatores contribuem para a formação da placa — porém os níveis de LDL desempenham um papel importante no desenvolvimento da placa ateromatosa (MILIOTI et al., 2008).

O desenvolvimento da placa está relacionada a diversos estágios, desde o depósito de lipídeos à sua ruptura, e suas complicações trombóticas (ROMAN; WENDLAND; POLANCZYK, 2007) em resposta a uma reação inflamatória localizada na parede do vaso (ORR et al., 2005). O desenvolvimento de células espumosas, é o resultado da migração de monócitos, e absorção de quantidades excessivas de lipoproteínas do plasma (ZHAO et al., 2007), permitindo a parede arterial se

expandir e acomodar o desenvolvimento da placa, reduzindo o avanço sobre o lúmen, no entanto pode haver retração da parede arterial na presença da placa aterosclerótica, com conseqüente estreitamento luminal (MCLEOD et al., 2004). Deve-se ressaltar que algumas complicações das placas ateroscleróticas têm importância na evolução da doença (TARDINI; YOSHIDA, 2003),

A morfologia da placa vem sendo estudada principalmente em relação à ruptura, pois não existe um tempo de quando ocorre, se no início da formação ou no trombo, caracterizada por hemorragia (MASSARO et al., 2010; KRAMER et al., 2009). Ao longo do tempo, o desenvolvimento da lesão pode provocar fissuras na placa e ruptura, levando, em alguns casos, ao infarto do miocárdio ou acidente vascular cerebral (HANSSON, 2001; WADDINGTON et al., 2003; GALKINA et al., 2006; HAHN; SCHWARTZ, 2009) pois reduz a função endotelial, limitando o diâmetro efetivo dos vasos, e pode desencadear vários tipos de acidentes vasculares (HANSSON, 2001; LITTLE; BALLINGER; OSMAN, 2007).

A disfunção endotelial é um dos primeiros passos na gênese da placa aterosclerótica (CABALLERO et al., 2006). As alterações das características do fluxo sanguíneo ocorre, resultando em aumento da turbulência e na diminuição do estresse de cisalhamento; levando a alterações endoteliais — estas, precoces, precedem à formação de lesões ateroscleróticas e são responsáveis pela disfunção das células endoteliais (HOWARD-ALPE; SEAR; FOEX 2006). A persistente exposição do endotélio aos fatores de risco para as doenças cardiovasculares produz inflamação crônica, caracterizada pelo aumento da aditividade dos leucócitos e das plaquetas (SIGNORI et al., 2007).

A doença aterosclerótica surge no curso da formação de placas de lipídios na parede arterial, de forma que as lesões avançadas podem obstruir o lúmen do vaso (RAMOS et al., 2007) sendo o resultado de uma complexa interação entre lipoproteínas, matriz extracelular e células da parede do vaso (LITTLE; BALLINGER; OSMAN, 2007), em que a composição da placa, em vez do grau de estenose, pode ter um papel central no desenvolvimento de eventos agudos aterotrombóticos, com efeito de ruptura de placa vulnerável, sendo a principal causa de síndromes coronarianas agudas (VELZEN et al., 2009).

O conhecimento sobre os mecanismos fisiopatológicos relacionados ao desenvolvimento e à desestabilização da placa aterosclerótica, é crescente, e ainda não está esclarecido (TZIAKAS et al., 2010). Geralmente em coelhos, começam em artérias pequenas, ocorrendo mais no arco aórtico, com uma tendência decrescente nas partes inferiores da aorta (FINKING; HANKE, 1997). As lesões ateroscleróticas ficam aparentemente mais evidentes, associando-se a colesterol, gorduras saturadas e proteínas animais — quando observadas em coelhos hiperlipidêmicos são compostas principalmente de estrias gordurosas, semelhantes às lesões do tipo II da aterosclerose humana (CHEN; CHANG; JIANG, 1999; JALDIN et al., 2006).

3.5 Dieta hiperlipidêmica e Aterosclerose

As mudanças nos hábitos alimentares e a qualidade de vida estão entre as causas que provocam o aumento na incidência das doenças cardiovasculares, sendo relacionadas com as transições econômicas, a urbanização e a industrialização (CASTRO et al., 2004; SCHERR; RIBEIRO, 2009).

A dieta gordurosa com ácido graxo saturado é um importante fator que eleva o nível de LDL, assim, a hiperlipidemia está associada à aceleração da aterosclerose, de modo que a substituição isocalórica dos ácidos graxos saturados por ácidos graxos poli-insaturados reduz os níveis do CT e o LDL plasmáticos (COTTIN et al., 2001; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007; WAQAR et al., 2010). Desta forma, os padrões dietéticos estão relacionados com as doenças cardiovasculares, sendo associadas à alimentação, principalmente com ingestão elevada de lipídios e colesterol (CASTRO et al., 2004; YONAMINE et al., 2005).

O colesterol plasmático em coelhos da raça Nova Zelândia é baixo, numa média de 1,3 mmol/l, mas pode aumentar até 2-8 vezes após a administração de uma dieta enriquecida com 0,1-2% de colesterol, dentro de 20 dias (FINKING; HANKE, 1997). Os coelhos têm sido utilizados vastamente para estudar o desenvolvimento de aterosclerose em humanos, pelo rápido desenvolvimento das lesões produzidas com suplemento de colesterol na dieta, alcançando hipercolesterolemia moderada com níveis de colesterol plasmáticos na faixa de 200 a 800 mg/dl, podendo ser superior a 1.000 mg/dl, que causa lesão (SUZUKI;

YEUNG; IKENO, 2008; DORNAS et al., 2010). Por ter baixa concentração plasmática de colesterol total e lipoproteínas HDL como dominante, o VLDL passa a ser a principal classe de lipoproteínas plasmáticas, quando exposto à dieta rica em colesterol (SINGH et al., 2009).

O coelho (*Oryctolagus cuniculus*) é filogeneticamente o parente mais próximo dos roedores, e tem sido utilizado para a investigação da patogênese e tratamento de muitas doenças humanas, incluindo a aterosclerose (ZHANG; XU; LI, 2009) CONSTANT, 2004). Quando alimentados com dieta enriquecida em gordura saturada, aumentam os níveis plasmáticos de colesterol devido à lenta excreção de colesterol exógeno (IHARA et al., 1998; LANCELLOTTI; BOARELLI; MONCLUS, 2010). Este aumento significativo na concentração de colesterol plasmático é devido à alimentação com ração suplementada com gema de ovo (JALDIN et al., 2006), pois cada ovo de galinha apresenta concentração de colesterol de 956 mg/l/100g (RAMALHO et al., 2007).

Entre os modelos de animais estudados, como o cachorro e o rato, por exemplo, o coelho é o único que tem a tendência de apresentar hipercolesterolemia em poucos dias com administração de uma dieta rica em colesterol (FINKING; HANKE, 1997; IHARA et al., 1998; DORNAS et al., 2009; SINGH et al., 2009). Tal fato torna esse modelo de animal mais frequentemente estudado, com relação à aterosclerose, sendo o mais utilizado o de cor branca da raça Nova Zelândia, por suas várias características — apresenta lesões semelhantes em estrutura e composição encontradas em humanos — e também serve para avaliar os efeitos sobre o metabolismo de lipoproteínas, quando alimentados com colesterol, pois os coelhos são muito sensíveis à gordura dietética e ao colesterol, portanto, podem desenvolver rapidamente hiperlipidemia e aterosclerose (FINKING; HANKE, 1997; HANSSON; NICOLETTI, 2001; DORNAS et al., 2009; SINGH et al., 2009; WAQAR et al., 2010; ZHANG; XU; LI, 2010).

A primeira investigação sobre indução experimental de aterosclerose ocorreu em 1908, quando Ignatowski utilizou coelhos alimentados com leite, carne e ovo, e foi observado espessamento da íntima em aortas (DORNAS et al., 2010). Em 1912, na Alemanha, o médico Nikolai Anitchkow utilizou pela primeira vez a gema de ovo de galinha em coelhos com produção de aterosclerose na aorta (CONSTANT, 2004).

O mesmo médico, em 1913, demonstrou que não era apenas o colesterol que causava alteração aterosclerótica em artérias de coelhos (FINKING; HANKE, 1997). Após 65 anos da experiência em induzir aterosclerose com gema de ovo, três grupos americanos utilizaram colesterol purificado em coelho e verificou a presença de ateroma (CONSTANT, 2004).

Santos (2008) utilizou 42 coelhos, testando várias dietas hiperlipidêmicas como banha de porco, colesterol puro e gema de ovo de galinha — em que um grupo foi alimentado com 20 mL de gema de ovo de galinha, a dieta foi dividida e administrada em duas tomadas. O ovo apresenta alto teor de colesterol (997,5 mg/100) e lipídios totais (28,7 g/100), demonstrando ser um modelo eficaz na indução da aterosclerose e de baixo custo. Os autores obtiveram com eficácia, em 99 dias de experimento, espessamento de endotélio, células espumosas e fibrose arterial.

Jaldin et al. (2005) realizaram experimento com 14 coelhos jovens, com peso aproximado de 1.200 kg, divididos em dois grupos de sete animais: grupo G1-controle recebeu ração comercial, e grupo G2-dieta suplementada, contendo uma gema de ovo, acrescida de 13,5 ml de óleo de milho para cada 150 g de ração comercial, durante 3 meses. Foram observados níveis plasmáticos de CT, HDL e triglicerídeos. A parte torácica e abdominal da aorta, renais, bifurcação ilíaca da aorta e as artérias femorais foram analisadas para verificar a lesão dos vasos. Foram encontradas células espumosas na parte abdominal da aorta, renal, carótidas e femoral.

Jorge et al. (1997) administraram, em dois grupos de coelhos da raça Nova Zelândia, 100g de ração, acrescentadas de 0,5% de colesterol e 2% de gordura de coco, a água foi oferecida a *ad libitum*, durante 30 dias. Nos últimos 15 dias de dieta foi administrado ácido graxo ômega-3 numa dose de 300 mg/kg/dia, por meio de gavagem durante 15 dias. Os ácidos graxos ômega-3 elevaram o colesterol plasmático, reduzindo significativamente os triglicerídeos.

Clubb et al. (1989) utilizaram 25 coelhos *watanabe heritable hyperlipidemic*, machos e fêmeas, com cinco semanas de idade, divididos em dois grupos aleatoriamente: grupo-controle com dieta normal e grupo com suplementação de

ácido graxo ômega-3, receberam óleo de peixe. A dieta também continha 3,3-4,4 mg de colesterol/kg/dia e 47 a 62 mg vitamina E/kg/dia, durante cinco meses ou até obter seis meses de idade. A dieta foi preparada para duas semanas, e mantida congelada. A suplementação com óleo de peixe reduziu significativamente em 35% e 50%, as concentrações de CT e triglicérides em coelhas do grupo-controle e com óleo de peixe, os valores foram menores nos coelhos machos, porém a diferença não foi significativa. As concentrações de VLDL, LDL e HDL foram reduzidas nas fêmeas alimentadas com óleo de peixe, comparados com os machos, em que baixaram apenas as VLDL. Os dois grupos mostraram, na camada íntima da aorta, células espumosas, macrófagos e células musculares lisas.

Yano et al. (1995) administraram 300 mg/kg de peso de ômega-3 em coelhos hipercolesterolêmicos, durante 4 semanas, observaram que diminuiu o colesterol total nas frações de LDL, mas não o HDL. Concluíram que os efeitos do ômega podem contribuir para a ação hipolipemiante.

Adelstein, Ferguson e Roger (1992) utilizaram ômega-3 para administrar em coelhos, durante 10 semanas, em que foi verificado que os níveis de colesterol plasmático, triglicérides e o LDL aumentaram. Também foram observadas lesões na camada íntima na região do arco da aorta, com células espumosas.

3.6 Ácido Graxo Ômega-3

Os AGPI (Ácido Graxo Poli-insaturado) ômega-3 são ácidos essenciais, pois não podem ser sintetizados pelo organismo humano (STOLL et al., 1979; BJERVE et al., 1993; MOREIRA; VAZ, 2001; LEAF et al., 2003; HIRAYMA; SPERIDIÃO; FAGUNDES NETO, 2006; MANZUR; SUÁREZ; MONERIZ, 2006; BISCIONE et al., 2007; SECHI et al., 2007; HARRIS et al., 2008; DUDA; O'SHEA; STANLEY, 2009; ANDER et al, 2010) por isso devem ser ingeridos em dieta alimentar, por serem substâncias essenciais para o desenvolvimento e função do organismo humano, como o sistema cardiovascular (LEAF et al., 2003; SANTOS, 2003; BISCIONE et al., 2007).

Os AGPI essenciais são encontrados principalmente em peixe e no óleo de peixe, sendo os mais importantes o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido

docosahexaenóico (DHA) (SUÁREZ-MAHECHA et al., 2002; SANTOS, 2003; ANJO, 2004; DEFILIPPIS; SPERLING, 2006; MORAES; COLLA, 2006; SECHI et al., 2007; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007; BAYS, 2008; SANTOS; BORTOLOZO, 2008; SARPIETRO et al., 2010).

Muitos estudos mostram que os efeitos dos AG ômega-3 nos lipídios, dependem do tipo de paciente, e se a quantidade de ácidos graxos saturados na dieta é mantida constante. Em pacientes com hiperlipidemia, os ácidos graxos ômega-3 diminuem os níveis do LDL, em relação ao HDL, os níveis podem baixar ou não (SIMOPOULOS, 1991).

3.6.1 Ômega-3 Nutracêutico

Os nutracêuticos são alimentos potencialmente saudáveis, que desenvolvem um papel na manutenção de bem-estar humano, melhorando a saúde (MASSARO et al., 2010). Essa variedade de produtos não pode ser verdadeiramente classificada como alimentos, estão entre um híbrido de nutrientes e farmacêuticos, definidos como: uma substância que pode ser um alimento ou parte de um alimento que proporciona benefícios medicinais (ANDLAUER; FURST, 2002; LIRA et al., 2009;), e podem ser classificados como fibras dietéticas, ácidos graxos poli-insaturados, proteínas, peptídeos, aminoácidos, minerais e antioxidantes (MORAES; COLLA, 2008).

Uma classe de nutracêuticos é representada pelos AGPI, especialmente pelos AG da família ômega-3 e ômega-6. Alega-se que estes AG, como a suplementação de óleo de peixe, exercem um efeito protetor sobre o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (ANDLAUER; FURST, 2002). A capacidade para influenciar positivamente os fatores de risco cardiovascular e doença vascular aterosclerótica deve ser reconhecida como uma enorme oportunidade para a prevenção ou tratamento comum desta condição (MASSARO et al., 2010).

Os AG ômega-3 são produzidos por algas monocelulares, os cloroplastos de fitoplâncton marinho (STOLL et al., 1979; JUDÉ et al., 2006; INNIS, 2008) sendo considerados precursores dos AGPI de cadeia longa como o ácido EPA e o ácido

DHA, sendo os principais os AG ômega-3 (SUÁREZ-MAHECHA et al., 2002; SILVA; MIRANDA JÚNIOR; SOARES, 2007). A importância dos AGPI ômega-3 na nutrição humana e na prevenção de doença foi reconhecida cientificamente há mais de três décadas, e o ômega-3 é envolvido em muitos processos biológicos importantes no corpo humano (SHAHIDI; WANASUNDARA, 1998).

3.6.2 Efeitos do ômega-3

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que a ingestão de peixe na dieta tem efeito favorável sobre os níveis de triacilgliceróis, na pressão sanguínea, no mecanismo de coagulação e na redução da incidência de aterosclerose, e podendo diminuir a atividade das plaquetas; melhorando a dilatação vascular do endotélio (QUINTÃO, 2004; HOUSTON, 2005; MARTINEZ-GONZÁLEZ et al., 2006; SIMÃO et al., 2007; SANTOS; BORTOLOZO, 2008; SCHIANO et al., 2008).

Na década de 70 foi descoberto que os ácidos graxos ômega-3 podem desempenhar um papel importante em doenças cardiovasculares, quando Bang e Dyerberg apud Lave et al. (2008) relataram que os esquimós apresentavam baixas taxas desta doença, apesar de consumirem uma dieta rica em gordura (ANDLAUER; FURST, 2002; MARCHIOLI et al., 2005; TORREJON; JUNG; DECKELBAUM, 2007; SANTOS; BORTOLOZO, 2008).

Dois grandes ensaios de prevenção secundária, DART (Diet and Reinfarction Trial) e o GISSI (Grupo Italiano per lo Studio della Sopravivenza nell' Infarto Miocardico-Prevenzione) informaram que o aumento do consumo de peixes ou suplementos de óleo de peixe reduziu a morte coronária em paciente pós-infarto (GISSI-PREVENZIONE INVESTIGATORS, 1999; YOKOYAMA, et al., 2007). Estudos pioneiros em esquimós da Groenlândia há quase 30 anos sugeriu que a ingestão de AG ômega-3 transmite proteção nas doenças cardiovasculares (MANDEL et al., 2005; BRESLOW, 2006; JUNG et al., 2008).

Vários benefícios tanto nutricionais como medicinais dos ácidos EPA e DHA têm sido tema de pesquisas, e entre os efeitos fisiológicos nos humanos estão a prevenção e o tratamento de doenças cardiovasculares (SUÁREZ-MAHECHA et al., 2002; ANJO, 2004; BAYS, 2008). Além de promoverem redução dos triglicerídeos,

pela diminuição da síntese hepática de VLDL, podem ainda exercer outros efeitos cardiovasculares, como redução da viscosidade do sangue e maior relaxamento do endotélio. Também podem se revelar benéfica em prevenção do aparecimento de diabetes mellitus tipo 2 (HU et al., 2002; RIQUE; SOARES; MEIRELLES, 2002; THIES et al., 2003; ANJO, 2004; SANTOS, 2006; SCHACKY; HARRIS, 2007; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007; TATARCZYK et al., 2007).

Os AGPI, destacando a série ômega-3, aumentam a fluidez sanguínea (ANJO, 2004) e desempenham importante papel no metabolismo de transporte de gorduras, além da manutenção da função, e integridade de membranas celulares (OLIVEIRA et al., 2004). Também afetam a expressão de diversas proteínas como moduladoras de vários genes, envolvidos no metabolismo lipídico, na inflamação e proliferação de células musculares lisas, e dos genes que podem desempenhar um papel crucial na prevenção da aterosclerose (JUNG et al., 2008).

A maioria das evidências sugere que os efeitos do ômega-3 também é atuar sobre o perfil lipídico e na redução do VLDL (SIMÃO et al., 2007; BAYS, 2008; SANTOS; BORTOLOZO, 2008). Assim, também, como efeito ou não sobre as concentrações de HDL e LDL, demonstrando que não existem efeitos significantes da suplementação com óleo de peixe na concentração de HDL e colesterol total (JUNG et al., 2008) e possuem o inconveniente de induzir maior oxidação lipídica e diminuir o HDL, quando utilizados em grande quantidade (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007).

Historicamente, a maior parte do entendimento é de que o benefício de óleo de peixe sobre os efeitos da saúde vem de estudos em população com dietas ricas em AGPI, especialmente com ômega-3 (SIDDIQUI; HARVEY; ZALOGA, 2008). Estudos indicam que o uso de ômega-3 está associado à redução do risco de doença cardíaca e uma série de mecanismos pode ser responsável por tais efeitos (HARRIS et al., 2008). O aumento da ingestão foi mostrado para reduzir a mortalidade em indivíduos saudáveis, e pacientes com infarto prévio do miocárdio (SCHIANO et al., 2008).

Os efeitos da suplementação com ômega-3 vêm sendo investigados, pois não estão elucidados (GARÓFOLO; PETRINI, 2006). Portanto, a dieta com ômega-3 —

contendo os ácidos EPA e o DHA — tem demonstrado que reduz a aterosclerose em modelos com animais (THIES et al., 2003). Em experimentos em cães, porcos e macacos inibiram o desenvolvimento da aterosclerose por redução da concentração do colesterol plasmático (CONNOR, 2000; SCHACKY; HARRIS, 2006). Os efeitos benéficos foram observados também nos modelos de oclusão do vaso e aterosclerose (SCHACKY; HARRIS, 2006).

O mecanismo exato pelos quais o ômega-3 desempenha um efeito protetor nas doenças cardiovasculares não está esclarecido (JUNG et al., 2008). Os possíveis mecanismos que promovem a redução do risco de doença cardiovascular estão relacionados a vários fatores, entre eles a redução dos níveis de triglicérido, (RAMOS; RAMOS, 2005; BISCIONE et al., 2007; HARRIS et al., 2008; SIDDIQUI; HARVEY; ZALOGA, 2008). Uma série de mudanças da função das células ocorre no momento da incorporação dos ácidos EPA e DHA na membrana celular, entre eles estão à redução pró-aterogênica, pois pode inibir o desenvolvimento de novas placas, além de retardar o crescimento e contribuir para sua estabilização (SCHACKY; HARRIS, 2006, 2007; SCHIANO et al., 2008; HOY; KEATING, 2009; SARPIETRO et al., 2010).

Os AG ômega-3 EPA e DHA podem atuar sobre as lipoproteínas e os parâmetros funcionais da circulação dos glóbulos vermelhos, em que a ingestão moderada pode aumentar significativamente a concentração desses AG no plasma (CARVAJAL; ÂNGULO, 1997). O DHA faz parte da membrana celular, principalmente em substituição de outros ácidos graxos insaturados, e assim na modulação celular (SCHACKY, 2006).

A American Heart Association (AHA) reconheceu que os ácidos graxos ômega-3 (EPA e DHA) podem diminuir as disritmias, a morte súbita, como também a aterosclerose, e ligeiramente a pressão arterial (BAYS, 2008). Evidências epidemiológicas e clínicas sugerem uma associação inversa, significativa, entre a ingestão de AGPI de cadeia longa ômega-3, especialmente o ácido EPA e o ácido DHA, e a mortalidade associada com doenças da artéria coronária. Desse modo, o consumo de peixe ou óleo de peixe pode proteger contra grandes eventos associados com doença arterial coronariana, especialmente infarto fatal e morte súbita cardíaca (YOROYAMA, et al., 2007).

3.6.3 Dosagem do ômega-3

Os AG são compostos insolúveis em água e ricos em energia, podendo fornecer 9 quilocalorias por grama (SANTOS, 2008). Quando administrado em altas doses (4 a 10 g/dia) reduzem os triglicerídeos e aumentam discretamente o HDL. A suplementação de 1 g/dia de ômega-3 em cápsulas reduziu em 10% os eventos cardiovasculares. Portanto, o AG ômega-3 pode ser utilizado como terapia adjuvante na hipertriglicemia ou em substituição a fibratos, niacina ou estatinas em pacientes intolerantes (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007; SANTOS, 2008).

Embora o consumo ideal de AG de cadeia longa ômega-3 ainda esteja sob investigação, as evidências de mais estudos prospectivos de prevenção secundária sugerem que a ingestão diária dos ácidos ômega-3 (EPA e DHA) seja de 0,5-1,8 g, (TATARCZYK et al., 2007). Para AHA e American College of Cardiology, a ingestão recomendada é de 1g/dia de ômega-3 para a prevenção de doença cardiovascular, infarto do miocárdio pós-tratamento e prevenção de morte cardíaca súbita (SCHACKY; HARRIS, 2007; TATARCZYK et al., 2007) ou pelo menos 2 porções de peixe por semana e 2 a 4 g/d para fins de redução em pacientes com hipertrigliceridemia (HOUSTON et al., 2005; TATARCZYK et al., 2007) sob a forma de peixe ou suplemento de óleo de peixe em cápsulas (LAVIE et al., 2009).

De acordo com as recomendações do Food and Nutrition Board of the National Academies (Institute of Medicine – USA, setembro, 2002) a ingestão de AG essenciais deve ser em torno de 10% do total de lipídios na dieta, sendo que este valor vai de 1% a 2% de ômega-3. No entanto, o National Institute of Health, em um workshop realizado em abril de 1999 em Bethesda (Maryland, USA) recomenda que a ingestão ideal de ômega-3 para adultos, sob uma dieta de 2000 kcal, deve ser de 2,22 g de alfa-linolênico por dia, dos quais 0,65 g devem ser de EPA e DHA (ANDRADE; CARMO, 2006).

Os níveis de ingestão adequada de AG essenciais foram estabelecidos pelo Institute of Medicine, por meio das Dietary Reference Intakes (DRIs) baseadas na ingestão média da população americana. Esses valores são preconizados de consumo de 1,6 g e 1,1 g para homens e mulheres, respectivamente. Por falta de dados suficientes, não estabeleceu a quantidade para os ácidos EPA e DHA

(GARÓFOLO; PETRINI, 2006). O estudo GISSI demonstrou que a prevenção com o tratamento do AGPI ômega-3 é utilizado com 1 g/dia (TATARCZYK et al., 2007).

Os AG de cadeia longa ômega-3 são facilmente incorporados à dieta suplementar, a partir de óleo de peixe com 1,4 g dos ácidos EPA e DHA, (CHUMAEVA, et al., 2010). O consumo de óleo de peixe, proporcionando uma dose modesta de ácidos graxos poli-insaturados EPA e DHA, melhora a estabilidade da placa (THIES et al., 2003) assim como a permeabilidade vascular é melhorada pela ingestão de EPA e DHA (SCHACKY; HARRIS, 2007). Quando a dieta em que a ingestão do ômega-3 é baixa, não pode fornecer um equilíbrio adequado de AGPI para a função biológica adequada do corpo (SHAHIDI; WANASUNDARA, 1998).

O metabolismo lipídico e lipoproteico altera-se de forma significativa com o consumo de pescado e suplementação nutricional com ácido graxo ômega-3, sendo que doses de ácidos graxos ômega-3 inferiores a 2 g/dia são suficientes para produzirem tais efeitos (SANTOS; BORTOLOZO, 2008).

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Amostra

O experimento foi realizado de acordo com a aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas (protocolo de pesquisa nº 011034/2007-55).

O tamanho da amostra foi definido, baseado em pesquisas anteriores, utilizando 07 (sete) animais, (HYAFIL et al., 2009; SANTOS, 2008; JALDIN et al., 2006). A dosagem do ômega-3 em 221 mg/kg/dia foi baseada no estudo de CAMPOS et al., (1989), e feito o cálculo de regra de três simples para quantificar a dose individual para cada animal.

Nesta pesquisa foram utilizados 21 coelhos machos adultos albinos da linhagem (*Oryctolagus cunicullus*) e raça Nova Zelândia. O peso médio dos animais foi baseado em estudo anterior (HSU; LEE; CHEN, 2001) 2,3 kg a 3 kg. Os animais ficaram em quarentena, examinados e acompanhados por veterinário; alojados em gaiolas individuais em local com temperatura ambiente, submetidos ao ciclo de luz de 12 horas (claro/escuro). Mantidos no biotério da Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas — UNCISAL — situada no bairro do Trapiche da Barra, Maceió-Alagoas.

4.2 Randomização da Amostra

Os coelhos foram randomizados e distribuídos em 3 grupos, com 7 (sete) animais da seguinte forma: Grupo Controle (G1), Grupo Hiperlipidêmico (G2) e Grupo Tratado (G3). Os animais foram escolhidos aleatoriamente e pesados com balança digital. Para evitar misturar os animais durante a manipulação, os coelhos foram colocados em gaiolas individuais e enumerados na face interna da orelha.

4.3 Dieta

O peso da ração em 200g foi baseado em estudos anteriores (SANTOS, 2008; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ; DIAGO-SANTAMARÍA; VAQUERO-PUERTA, 2005; RITSKES-HOITINGA, et al., 1998). Essa foi pesada e oferecida pela manhã e

deixada à disposição do animal.

Quadro 2 – A Ração utilizada no experimento foi a Purina®, que tem a seguinte composição

Produto	(%)
Proteína bruta	15
Extrato etéreo	2,5
Matéria fibrosa	16
Matéria mineral	10
Cálcio	2,5
Fósforo	0,42
Umidade	13
Carboidrato	31,58

Fonte: Autora, 2011.

Utilizamos nesta pesquisa o modelo de aterosclerose experimental de Santos (2008). A dieta complementar foi preparada diariamente, com 20 mL de gema de ovo de galinha Carnaúba® tipo grande, durante 99 dias.

Quadro 3 – A composição em 100g de gema apresenta é a seguinte

DETERMINAÇÕES	RESULTADOS
Lipídios totais (g/100g)	28,7 (0,3)
Colesterol (MG/100g)	997,5 (30,1)
Ácidos Graxos (g/100g)	
Saturados	8,53
Monoinsaturados	10,84
Poli-insaturados	4,19
Ômega 3	0,17
Ômega 6	4,02

Fonte: Centro de Ciências e Qualidade de Alimentos, 2008 (Figura 1)

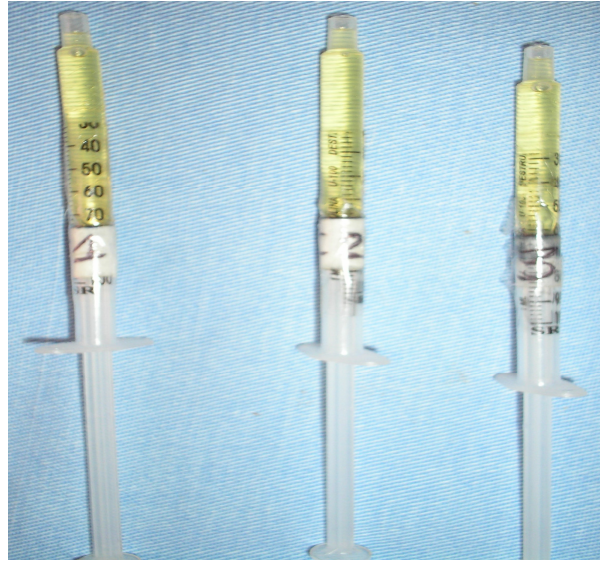
As cápsulas de ômega-3 na apresentação de 500mg, com composição de 14,1% do ácido docosaexaenóico (DHA) e 20,8% do ácido eicosapentaenóico (EPA), adquirido pela Fórmula® do fornecedor Cardinal Health Brasil. A droga era aspirada em uma seringa de 1 mL e administrada em dose de 221 mg/kg/dia (Figura 2).

Figura 1 – 10 ml de gema, em seringa de 20 mL



Fonte: Autora, 2011.

Figura 2 – Dose do ômega-3 em seringa de 1 mL



Fonte: Autora, 2011.

A dieta foi distribuída da seguinte forma e aceitação por cada grupo:

- ✓ G1 (controle) – Alimentação habitual do animal ofertada diariamente ração Purina® e água *ad libitum*;
- ✓ G2 (hiperlipidêmico) – Ofertada diariamente ração Purina® e água *ad libitum*, com duas tomadas de 10 mL de gema de ovo de galinha Carnaúba®, ofertada às 7h e às 11h;
- ✓ G3 (Tratado) – Ofertada diariamente ração Purina® e água *ad libitum*, duas tomadas de 10 mL de gema de ovo de galinha Carnaúba®, às 7h e às 11h, após a primeira tomada de gema foi administrado 221 mg/kg/dia de ômega-3.

4.4 Dieta Hiperlipidêmica

O ovo é um alimento com valor nutritivo e propriedades funcionais na dieta, no entanto, o consumo pode trazer alguns problemas de saúde, porque ele é uma fonte importante de colesterol, e pode causar doença cardíaca (ATAKISI et al., 2009; BRAGAGNOLO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2003).

A gema foi ofertada crua aos coelhos e administrada via oral com uma seringa de 20 mL (Figura 3) pois a forma líquida facilita a maior absorção de colesterol, o que é melhor que a administração na forma sólida. Os ovos foram lavados com sabão neutro e colocados em água com hipoclorito de sódio, durante 5

minutos, para evitar contaminação durante o processo de separação da clara. Em relação ao ômega-3, o óleo de peixe foi retirado da cápsula com uma seringa de insulina, na hora de ofertar aos animais.

Figura 3 – Método de administração na alimentação da gema de ovo.



Fonte: Autora, 2011.

4.5 Coleta para Dosagem Bioquímica

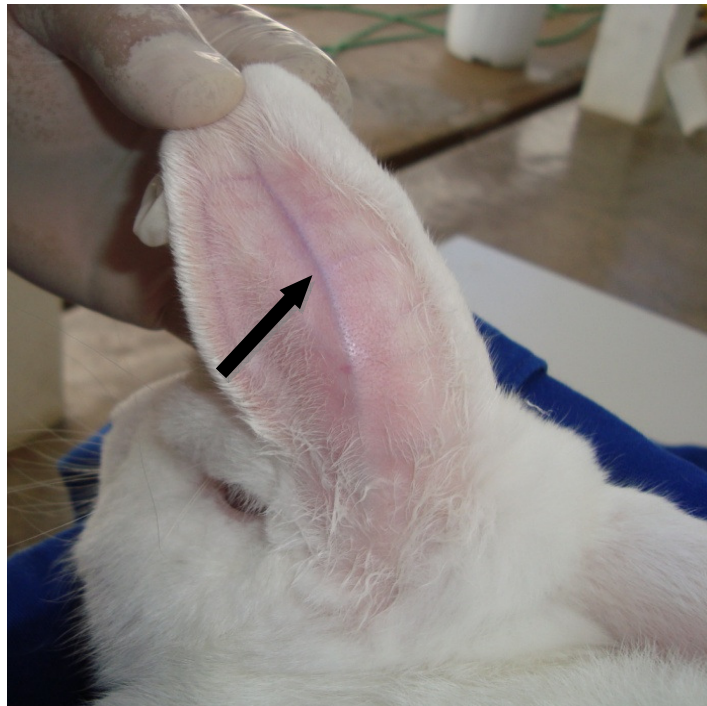
Após jejum de 12 horas (SETORKI et al., 2010) foram coletadas amostras de sangue (Figura 4) para analisar as taxas de colesterol total, HDL-c, LDL-c, VLDL-c e triglicérido. O procedimento foi realizado 4 vezes (0, 33, 66 e 99 dias) no experimento. Todos os dados foram anotados em protocolos específicos e individuais para cada animal. A punção ocorreu na artéria auricular central (Figura 5) com seringa de 3 mL e condicionada em tubetes de 3 mL sem anticoagulante. Após a coleta, as amostras foram levadas ao Centro de Patologia e Medicina Laboratorial — CPML, da Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas — e colocadas em um analisador automático modelo AU400e Olympus®.

Figura 4 - Coelho imobilizado para coleta de sangue



Fonte: Autora, 2011.

Figura 5 – Artéria auricular central, de onde o sangue foi coletado. (seta)



Fonte: Autora, 2011.

4.6 Procedimentos para Eutanásia

No final do experimento, aos 100 dias, os coelhos foram anestesiados e submetidos à eutanásia para retirada dos fragmentos. A técnica utilizada para anestesia em coelho foi a associação de ketamina e xilazina (MCCONNELL et al., 1999). A administração dos anestésicos foi baseada em estudos anteriores, em que foi utilizado ketamina 9 mg/kg, associado à xilazina de 30 mg/kg (MCCONNELL et al., 1999). Assim que foi observado o óbito do coelho, foram retirados fragmentos da artéria carótida comum direita próxima a sua bifurcação (Figura 6), parte proximal do arco aórtico da (Figura 7) e da artéria femoral direita, (Figura 8). Esses segmentos foram dissecados por planos até expor os vasos para a retirada dos fragmentos que foram tratados e colocados em solução de formaldeído a 10%, e processados em rotina histológica para microscopia de luz e corados com tricrômico de masson para microscopia de luz.

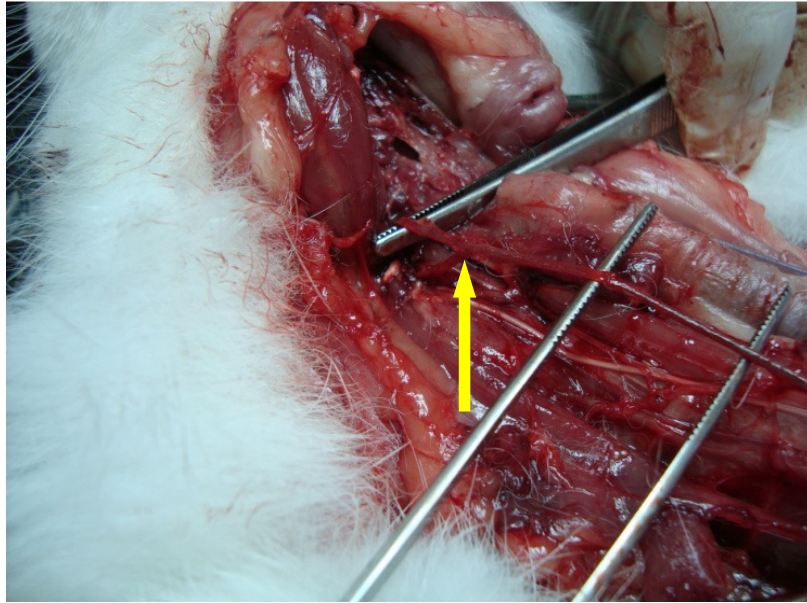
4.7 Análise Histopatológica

As lâminas foram processadas e coradas em microscopia de luz. A espessura da camada subendotelial foi realizada em micrômetros. Para o cálculo da porcentagem do espessamento da parede do vaso foi estabelecida a região mais espessa da camada subendotelial. A área foi medida em micras e subtraída da espessura total da parede na mesma região, sem considerar a adventícia.

Após realização das 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 4X, acoplado a um microcomputador com software de análise de imagem.

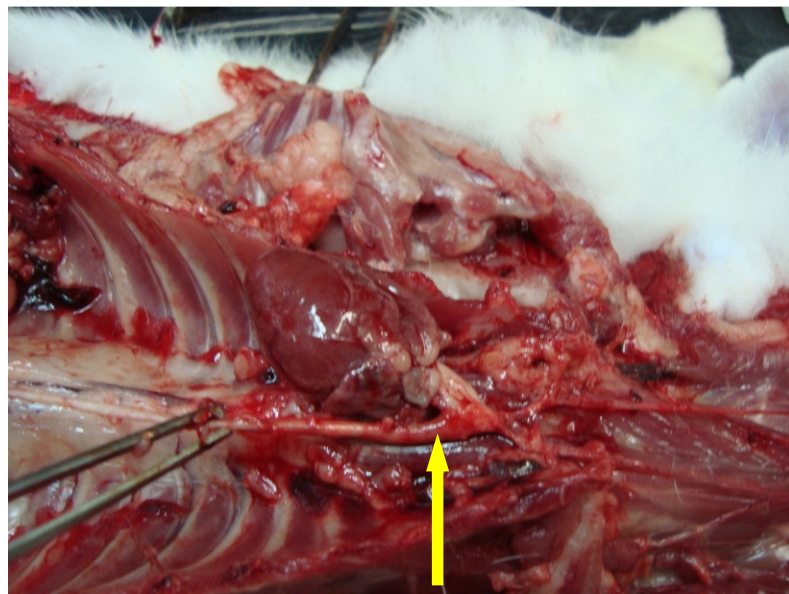
As medições foram realizadas com programa Image Pro Plus 5.0. Após medidas as camadas subendoteliais, foram calculadas as médias dos resultados em cada grupo.

Figura 6 – Coelho G1: Artéria Carótida Comum Direita (seta)



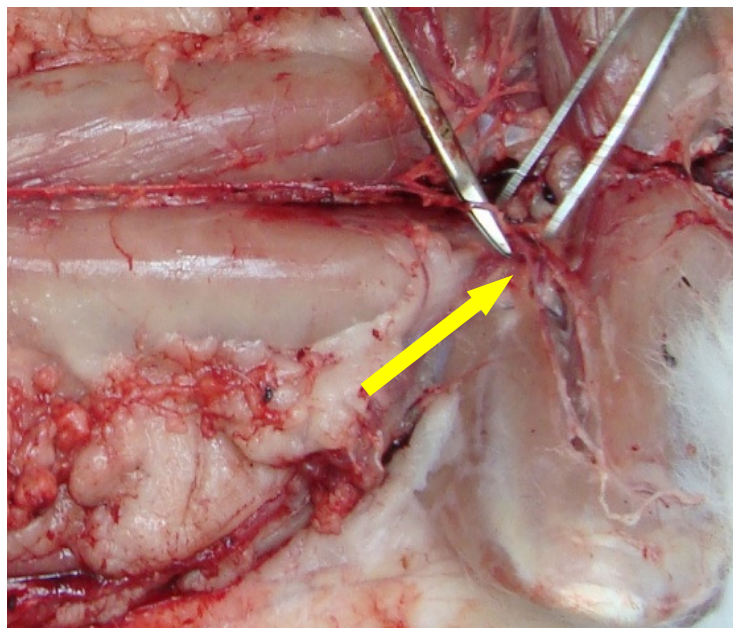
Fonte: Autora, 2011.

Figura 7 – Coelho Grupo 2: Arco Aórtico



Fonte: Autora, 2011.

Figura 8 – Coelho Grupo 3: Artéria Femoral Direita (seta)



Fonte: Autora, 2011.

4.8 Análise Estatística

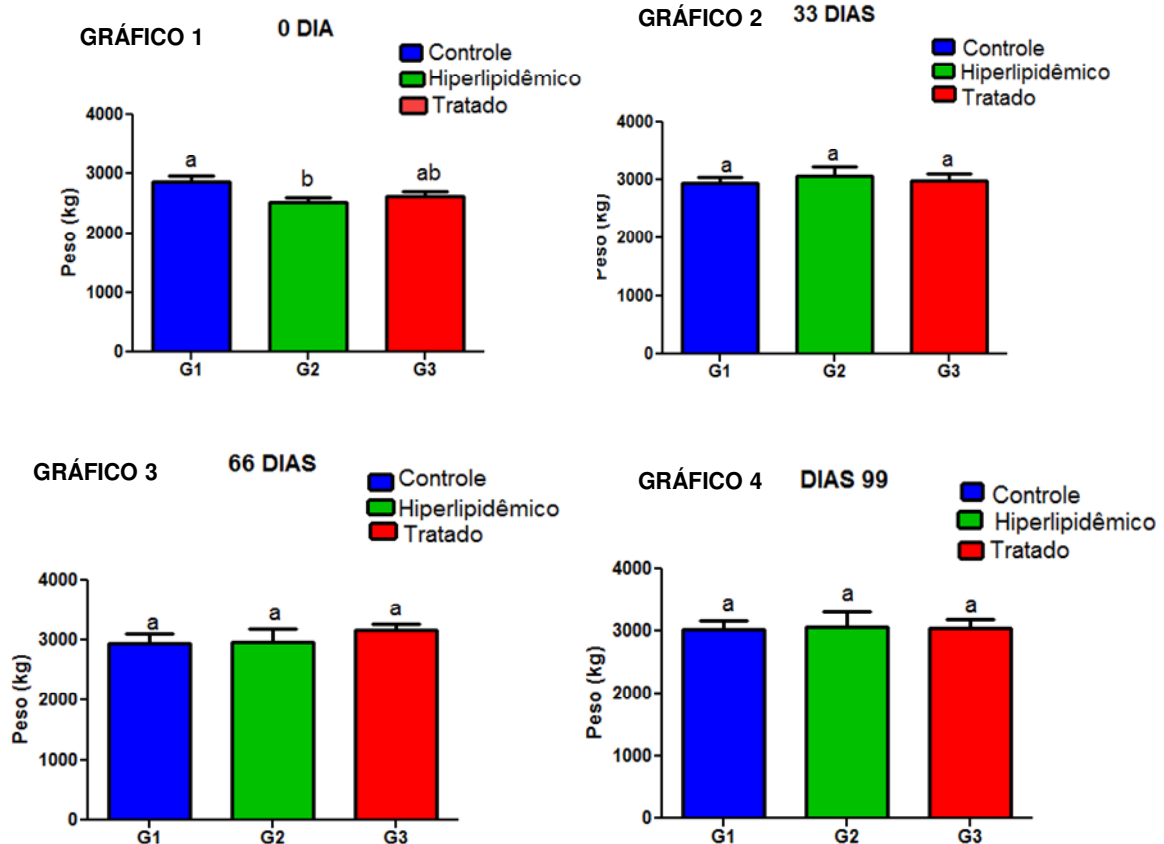
Todas as análises foram realizadas por meio da estatística descritiva, usando o software Graph Pad Prism (versão 5.0). Para a comparação entre os dias de cada grupo foi usado o ANOVA, seguido do teste não paramétrico Krauskal-Wallis. Os dados são expressos em Média \pm Desvio Padrão, por intermédio do teste de Kolmogorov-smirnov, para verificar a diferença significativa entre as médias. O nível de significância foi no valor de $P < 0,05$ — considerado estatisticamente significativo.

5 RESULTADOS

5.1 Peso dos Animais

Os animais não demonstraram nenhum efeito adverso aparente, sendo todos de aspecto saudável, assim como o manejo foi adequado e eficiente e o excesso de lipídios em sua alimentação não alterou, aparentemente, a saúde dos animais. Observou-se aumento do peso dos animais, durante o experimento, sendo similar entre os grupos, e não houve diferença estatisticamente significativa entre estes no final do experimento, conforme demonstram os gráficos de 1 a 4 — a média do peso por coelho é demonstrada na Tabela 1.

Gráficos 1 a 4 – Distribuição do Peso dos coelhos.



Fonte: Autora, 2011.

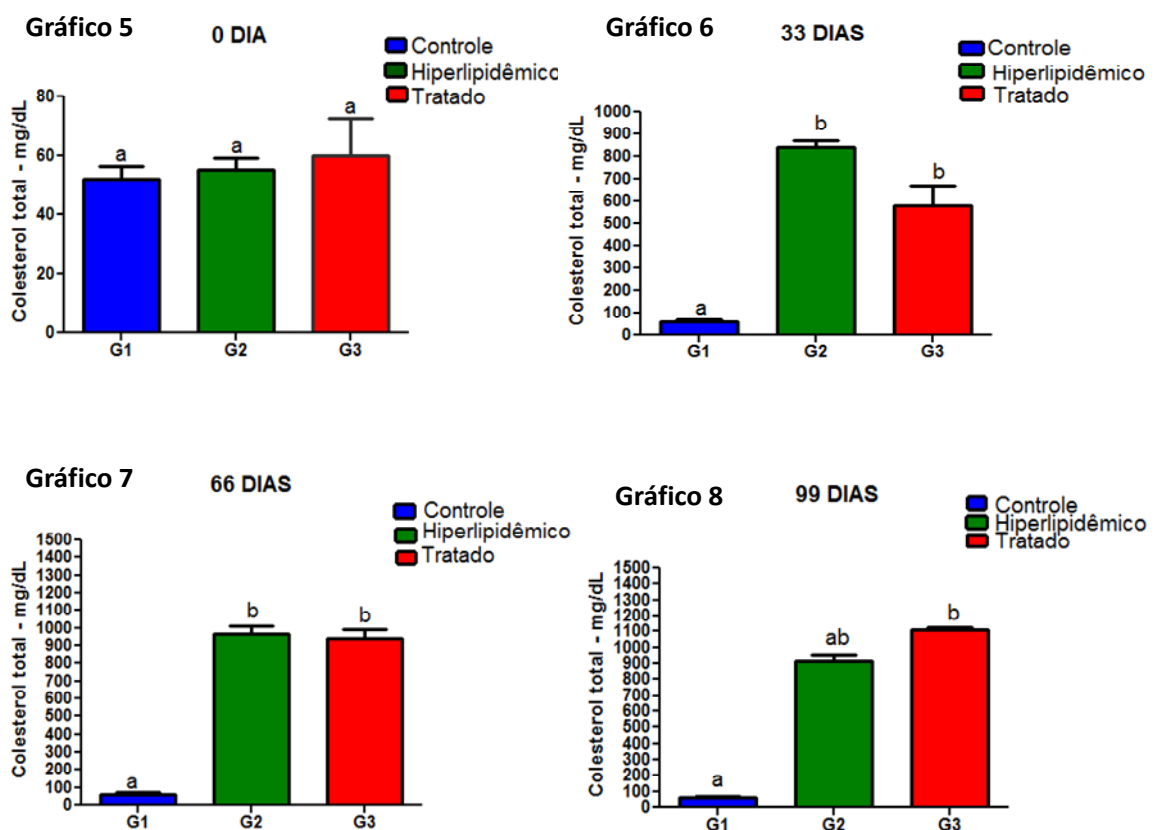
Antes do início do experimento, a comparação entre o a e b, o resultado foi significativo, entre a e a e b e b o resultado foi não significativo. Aos 33, 66 e 99 dias, o resultado foi não significativo entre os grupos. As diferenças estatísticas foram detectadas com ANOVA, seguido do teste de Kruskal-Wallis e o teste Kolmogorov-Smirnov, para verificar a média e o desvio padrão.

5.2 Taxas de Colesterol Total e suas Frações

5.2.1 Colesterol Total

Ao analisar os níveis do CT dos coelhos observou-se que não houve redução com a administração do ômega-3. Como demonstram os gráficos de 5 a 8, a média entre os grupos do mesmo grupo é demonstrada na Tabela 2.

Gráfico 5 a 8 – Valores da taxa de colesterol total dos grupos



Fonte: Autora, 2011.

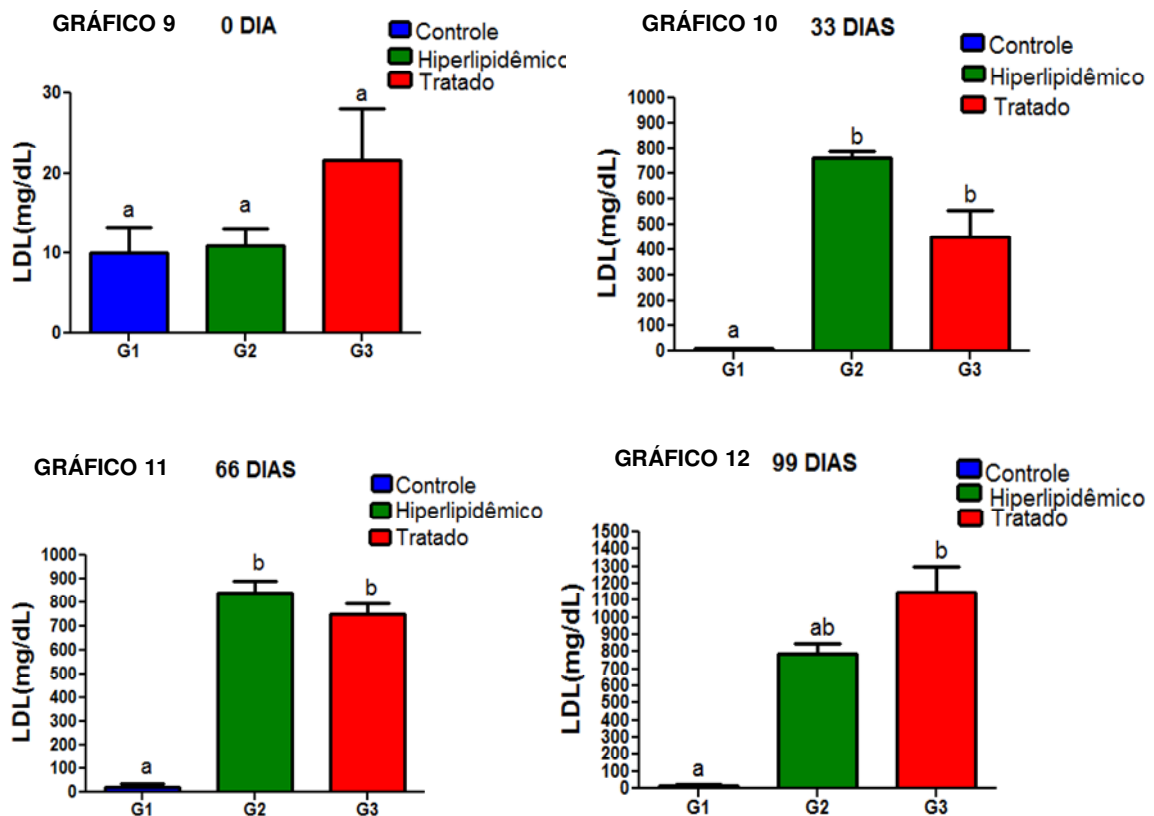
No início do experimento, na comparação entre os grupos, o resultado foi não significativo. Aos 33 e 66 dias, na comparação entre a e b, o resultado foi significativo e entre b, o resultado foi não significativo. Aos 99 dias, na comparação entre a e b, o resultado foi

significante e entre b o resultado foi não significante. As diferenças estatísticas foram detectadas com ANOVA, seguido do teste de Kruskal-Wallis e o teste Kolmogorov-Smirnov, para verificar a média e o desvio padrão.

5.2.2 LDL — colesterol

Ao analisar os níveis do LDL de cada grupo durante o experimento, observou-se que a administração de ômega-3 não reduziu os níveis do LDL, como demonstram os gráficos de 9 a 12. A Média entre os níveis, entre os coelhos do mesmo grupo, está representada na Tabela 3.

Gráfico 9 a 12 – Valores da taxa de LDL dos grupos.



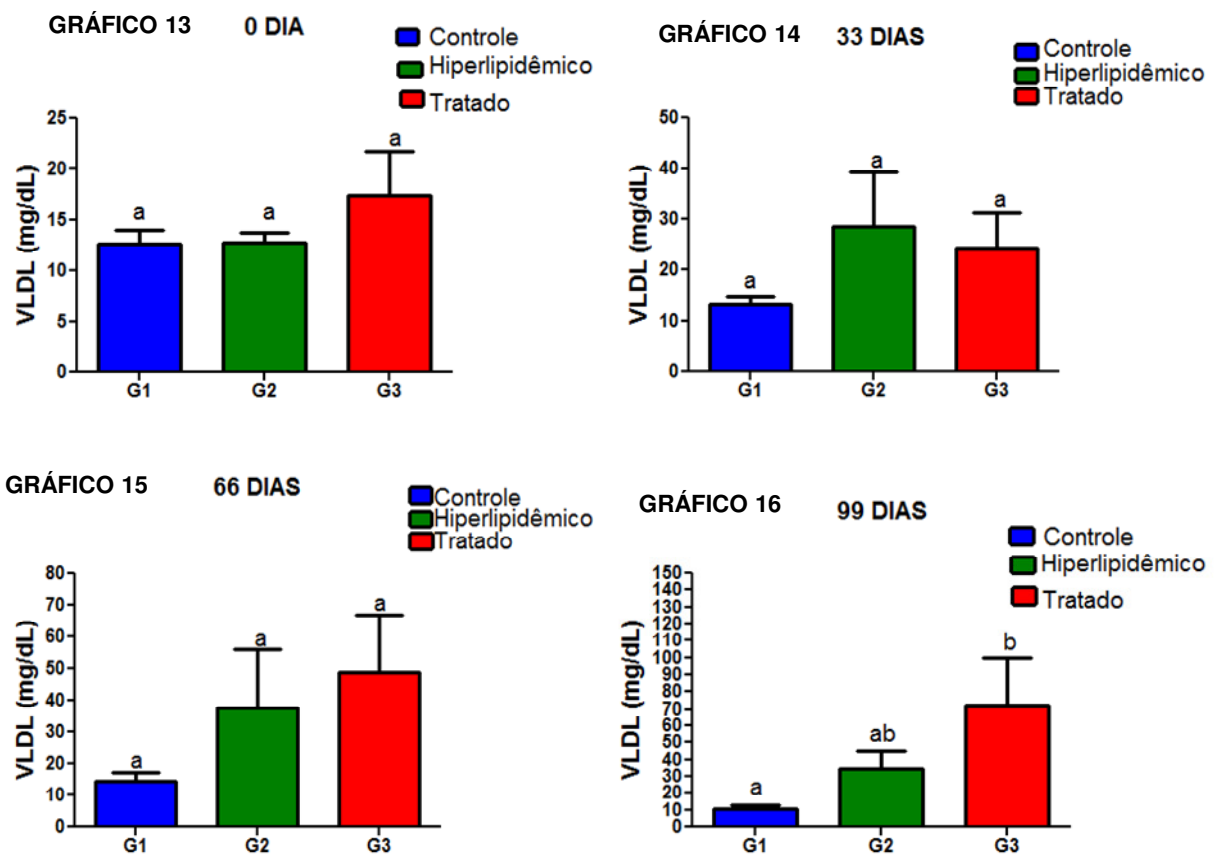
Fonte: Autora, 2011.

No início do experimento, a comparação entre os grupos foi não significante. Aos 33 e 66 dias, na comparação entre a e b, o resultado foi significante, e entre b o resultado foi não significante. Aos 99 dias, na comparação entre a e b, o resultado foi significante, e entre b o resultado foi não significante. As diferenças estatísticas foram detectadas com ANOVA, seguido do teste de Kruskal-Wallis e o teste Kolmogorov-Smirnov, para verificar a média e o desvio padrão.

5.2.3 VLDL — colesterol

Na análise dos níveis do VLDL, observou-se que o ômega-3 não reduz os níveis séricos. A média dos níveis de cada coelho é demonstrada na Tabela 4.

Gráfico 13 a 16 – Valores da taxa de VLDL dos grupos.



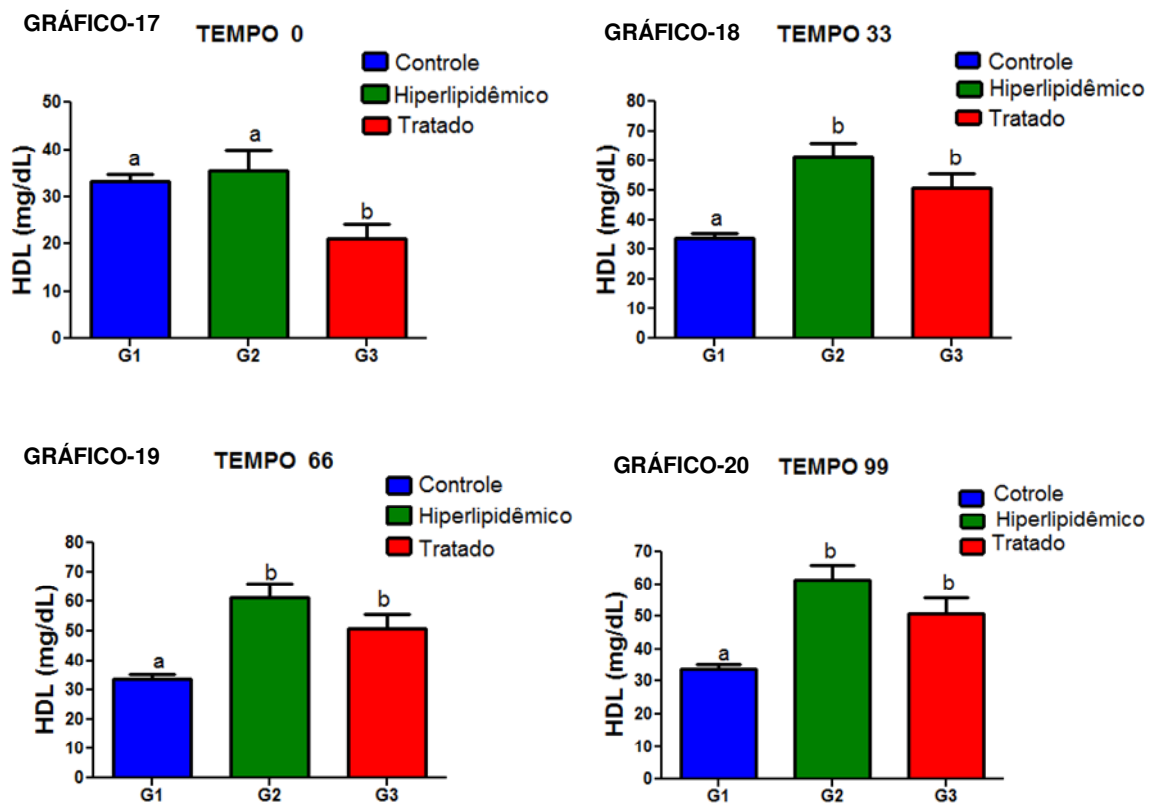
Fonte: Autora, 2011.

Antes do início do experimento e aos 33 e 66 dias, a comparação entre os grupos o resultado foi não significativa. Aos 99 dias, na comparação entre a e b, o resultado foi significativo, e entre b, o resultado foi não significativo. As diferenças estatísticas foram detectadas com ANOVA, seguido do teste de Kruskal-Wallis e o teste Kolmogorov-Smirnov, para verificar a média e o desvio padrão.

5.2.4 HDL — Colesterol

Ao analisar os níveis do HDL, observa-se que o nível do grupo G3 é menor em relação ao grupo G2, conforme demonstram os gráficos 17 a 20. A média e o desvio padrão são demonstrados na Tabela 5.

Gráfico 17 a 20 – Valores da taxa de HDL dos grupos.



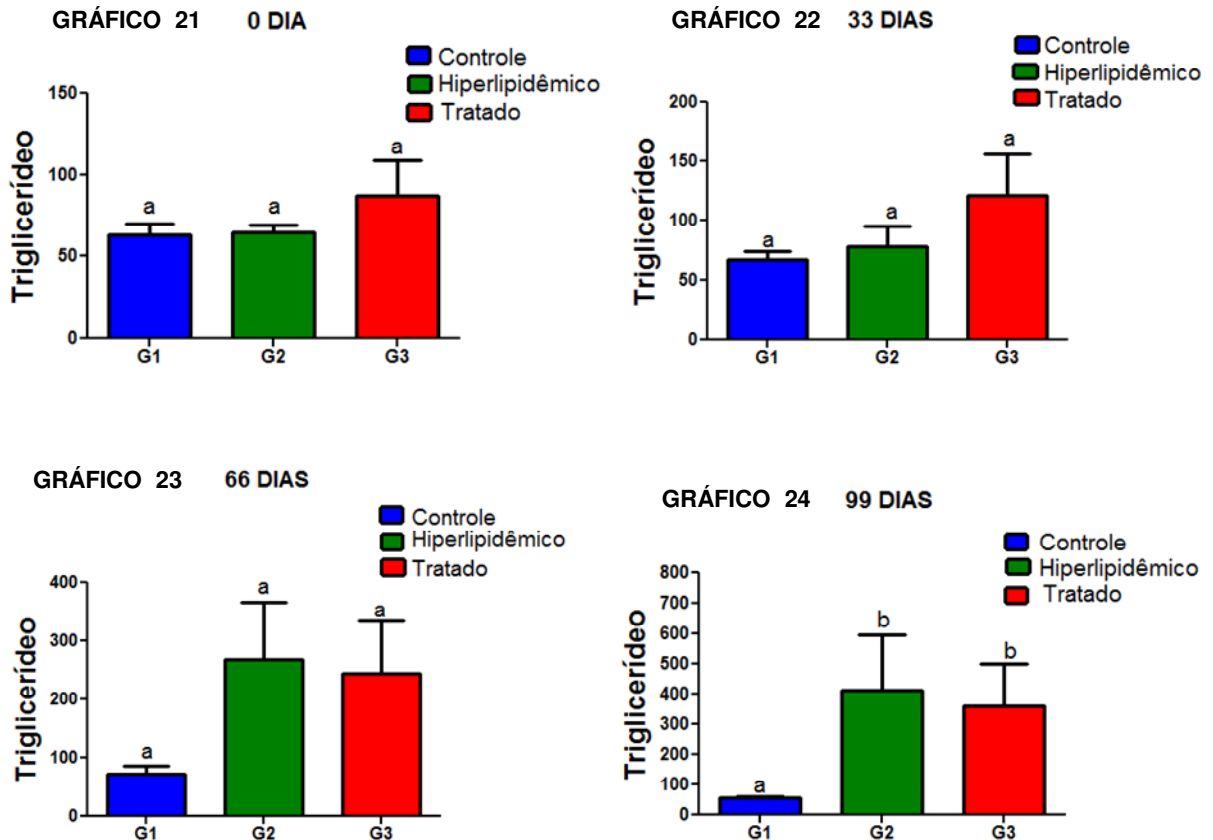
Fonte Autora, 2011.

Observa-se que, antes do início do experimento, na comparação entre a e b, o resultado foi significante. Em relação ao resultado de a, foi não significante. Aos 33, 66 e 99 dias, na comparação entre a e b, o resultado foi significante e o resultado de b foi não significante. As diferenças estatísticas foram detectadas com ANOVA, seguido do teste de Kruskal-Wallis e o teste Kolmogorov-Smirnov, para verificar a média e o desvio padrão.

5.2.5 Triglicerídeos

Ao analisar os níveis de triglicerídeo dos grupos, observou-se que o ômega-3 não reduziu os níveis do triglicerídeo. Como demonstram os gráficos de 21 a 24.

Gráfico 21 a 24 - Valores da taxa de triglicerídeo dos grupos.



Fonte: Autora, 2011.

Observa-se que, antes do experimento e aos 33 e 66 dias, na comparação entre os grupos o resultado foi não significativo. Em relação aos 99 dias, na comparação entre a e b, observa-se que o resultado foi significativo. Enquanto na relação entre b, o resultado não foi significativo. As diferenças estatísticas foram detectadas com ANOVA, seguido do teste de Kruskal-Wallis e o teste Kolmogorov-Smirnov, para verificar a média e o desvio padrão.

5.2.6 Análise dos Lipídeos em Média e Desvio Padrão

Tabelas com os valores em média e desvio padrão do peso, colesterol total, frações e frações, triglicerídeo

Tabela 1 – Distribuição da média do peso dos animais durante o experimento

GRUPO	G1-CONTROLE	G2-HIPERLIPIDÊMICO	G3-TRATADO
DIA 0	52.14±11.67	55.29±10.19	60.14±32.50
DIA 33	62.14±19.9	838.39±79.95	581.4±231.6
DIA 66	62.00±27.33	966.23±113.8	943.1±123.34
DIA 99	61.29±24.72	919.0±96.64	1113±42.85

Fonte: Autora, 2011.

Nota: Valores apresentando em média com desvio padrão pelo Teste de Kolmogorov-Smirnov. $p < 0,05$ — estatisticamente significativa.

Tabela 2 – Média dos níveis do colesterol total dos animais durante experimento

GRUPO	G1-CONTROLE	G2-HIPERLIPIDÊMICO	G3-TRATADO
DIA 0	52.14±11.67	55.29±10.19	60.14±32.50
DIA 33	62.14±19.9	838.39±79.95	581.4±231.6
DIA 66	62.00±27.33	966.23±113.8	943.1±123.34
DIA 99	61.29±24.72	919.0±96.64	1113±42.85

Fonte Autora, 2011.

Nota: Valores apresentados em média com desvio padrão pelo Teste de Kolmogorov-Smirnov. $p < 0,05$ — estatisticamente significativa.

Tabela 3 – Média e desvio padrão dos níveis do LDL dos animais durante experimento

GRUPO	G1-CONTROLE	G2-HIPERLIPIDÊMICO	G3-TRATADO
DIA 0	10.06±8.266	11.00±5.508	21.60±17.04
DIA 33	9.086±5.300	762.1±78.43	450.2±274.5
DIA 66	23.31±29.38	841.7±132.3	749.2±125.8
DIA 99	15.63±12.11	788.6±157.5	1151±389.1

Fonte: Autora, 2011.

Nota: Valores apresentados em média com desvio padrão. Teste de Kolmogorov-Smirnov. $p < 0,05$ — estatisticamente significativa.

Tabela 4 – Média e desvio padrão dos níveis do VLDL dos animais durante experimento

GRUPO	G1-CONTROLE	G2-HIPERLIPIDÊMICO	G3-TRATADO
DIA 0	12.69±3.519	12.71±2.752	17.37±11.59
DIA 33	13.34±3.924	28.49±28.51	24.20±18.61
DIA 66	14.31±7.640	37.54±48.92	49.00±46.88
DIA 99	10.97±4.127	34.43±27.49	72.14±74.01

Fonte: Autora, 2011.

Nota: Valores apresentados em média com desvio padrão. Teste de Kolmogorov-Smirnov. $p < 0,05$ — estatisticamente significativa.

Tabela 5 – Média e desvio padrão dos níveis do HDL dos animais durante experimento

GRUPO	G1-CONTROLE	G2-HIPERLIPIDÊMICO	G3-TRATADO
DIA 0	33.29±4.152	35.57±11.98	21.14±8.454
DIA 33	33.57±4.894	61.14±12.79	50.86±13.01
DIA 66	33.57±4.894	61.14±12.79	50.86±13.01
DIA 99	33.57±4.894	61.14±12.79	50.86±13.01

Fonte: Autora, 2011.

Nota: Valores apresentados em média com desvio padrão. Teste de Kolmogorov-Smirnov. $p < 0,05$ — estatisticamente significativa.

Tabela 6 – Média e desvio padrão dos níveis de triglicerídeo dos animais durante experimento

GRUPO	G1-CONTROLE	G2-HIPERLIPIDÊMICO	G3-TRATADO
DIA 0	63.43±17.60	64.86±11.60	86.86±57.96
DIA 33	66.71±19.62	78.14±45.55	121.1±93.22
DIA 66	71.57±38.20	268.9±258.6	244.9±234.5
DIA 99	54.6±20.64	412.9±485.1	361.1±369.6

Fonte: Autora, 2011.

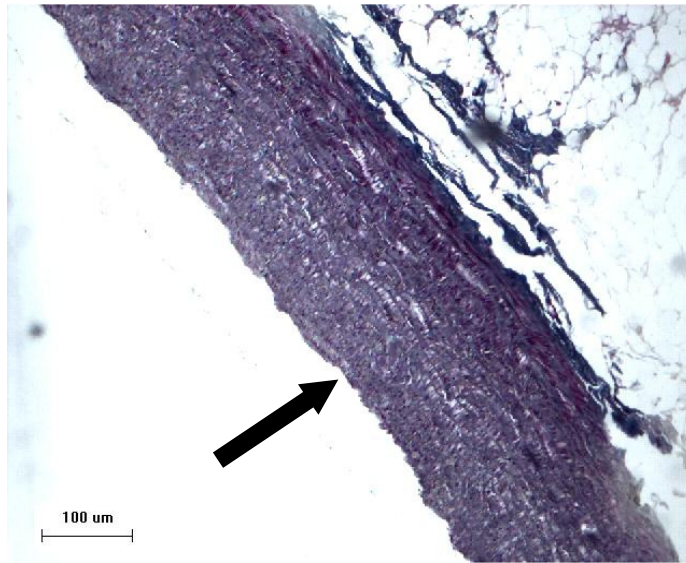
Nota: Valores apresentados em média com desvio padrão. Teste de Kolmogorov-Smirnov. $p < 0,05$ e — estatisticamente significativa.

5.3 Análise Anatomopatológica

Para a análise anatomopatológica, foram analisadas as artérias: carótida comum direita, o arco aórtico e o a artéria femoral direita. As lesões ateroscleróticas foram classificadas pelo exame histológico, após a coloração com tricrômico de Masson. O diferente estágio de evolução da placa foi estabelecido pela American Heart Association e classificada por Stary et al. (1995) sendo encontrados o tipo I e o tipo II.

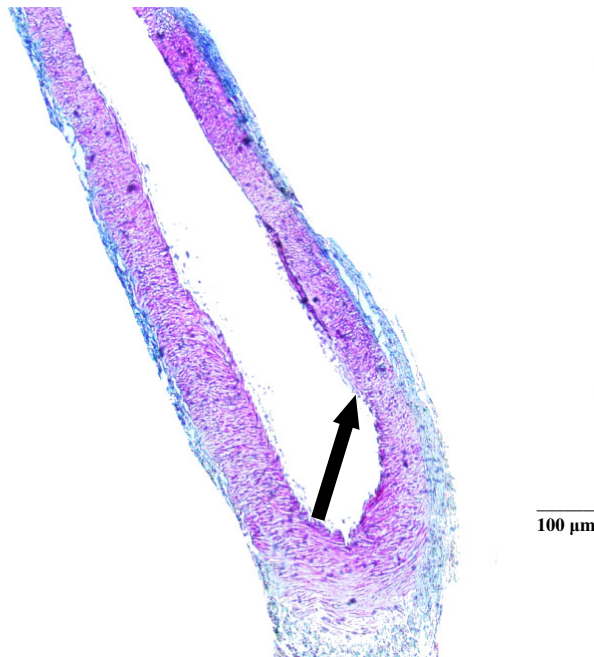
Na análise do grupo 1 (controle) não foram observadas alterações histológicas nos vasos estudados (Figura 9, 10 e 11).

Figura 9 – Grupo 1: Arco aórtico sem espessamento subendotelial. 4X



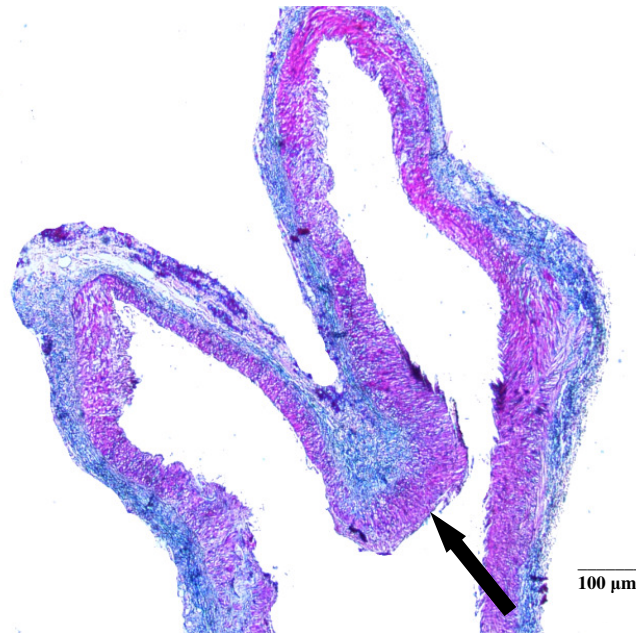
Fonte: Autora, 2011.

Figura 10 - Grupo 1: Artéria Femoral direita sem espessamento endotelial (seta). 4X



Fonte: Autora, 2011.

Figura 11 - Grupo 1: Artéria carótida comum direita sem espessamento endotelial (seta.) 4X



Fonte: Autora, 2011.

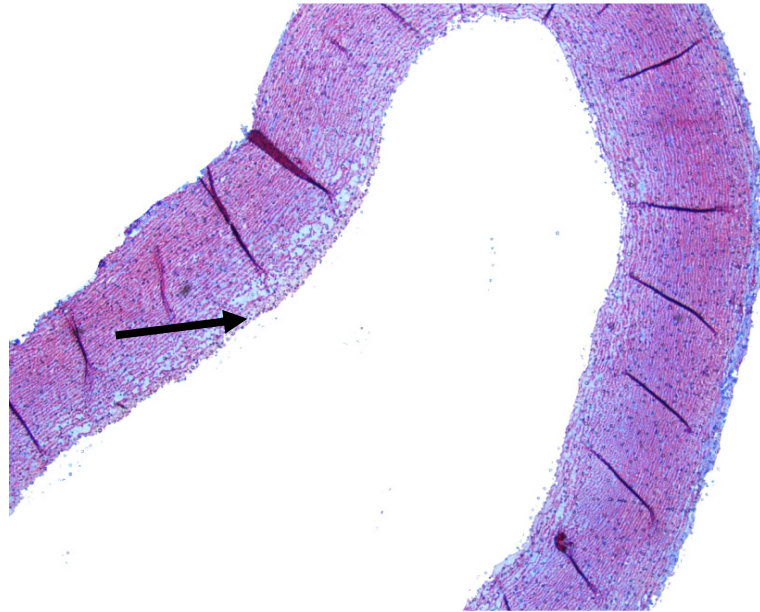
No grupo G2 (Figura 12 e 13) foram evidenciadas formações de células espumosas e espessamento subendotelial.

Figura 12 - Grupo 2: Arco aórtico com espessamento subendotelial (seta). 4X



Fonte: Autora, 2011.

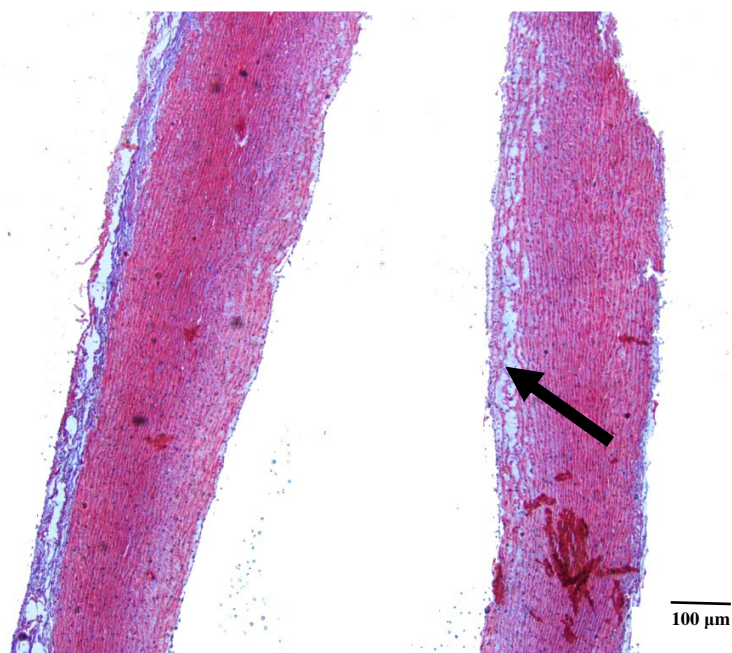
Figura 13 - Grupo 2: Arco aórtico com células espumosas (seta). 4X



Fonte: Autora, 2011.

No grupo 3 (Figura 14 e15) foram evidenciadas formações de células espumosas e espessamento subendotelial, em todos os animais. O espessamento e a formação de células espumosas foram evidenciados no arco aórtico.

Figura 14 - Grupo 3: Arco aórtico com células espumosas (seta). 4x



Fonte: Autora, 2011.

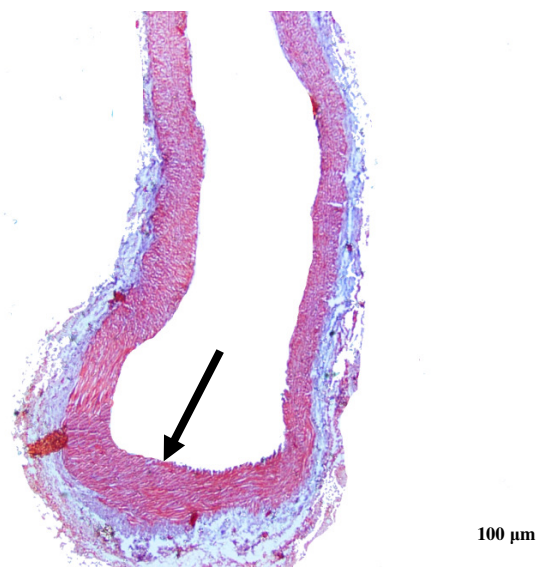
Figura 15 - Grupo 3: Arco aórtico com espessamento subendotelial (seta).4X



Fonte: Autora, 2011.

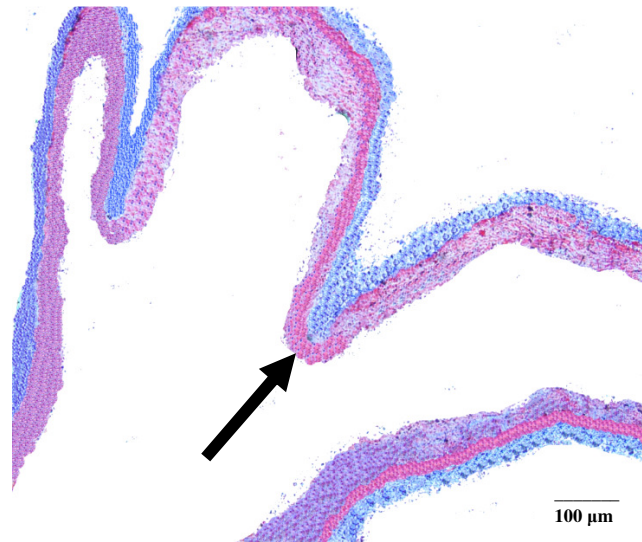
As artérias carótidas não apresentaram espessamento do endotélio e formação de células espumosas, no grupo G1, como também nos grupos G2 e G3, em que foram administrados dieta hiperlipidêmica e o ômega-3 — como demonstrado nos respectivos grupos abaixo (Figuras 16 e 17).

Figura 16 - Grupo 2: Artéria Carótida Comum Direita (seta).4X



Fonte: Autora, 2011.

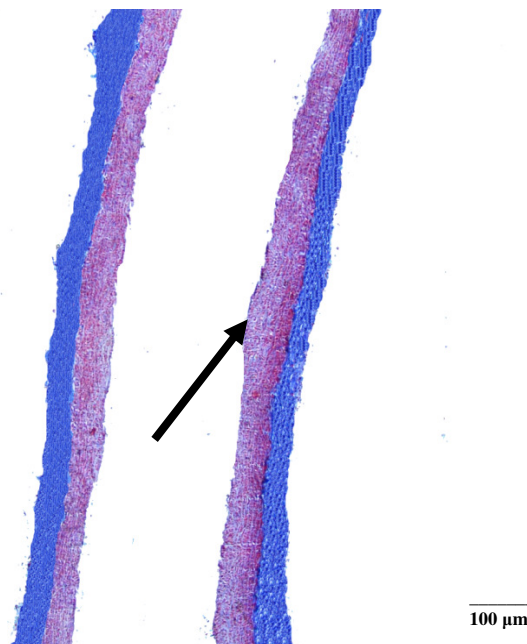
Figura 17 - Grupo 3: Artéria Carótida Comum Direita (seta).4X



Fonte: Autora, 2011.

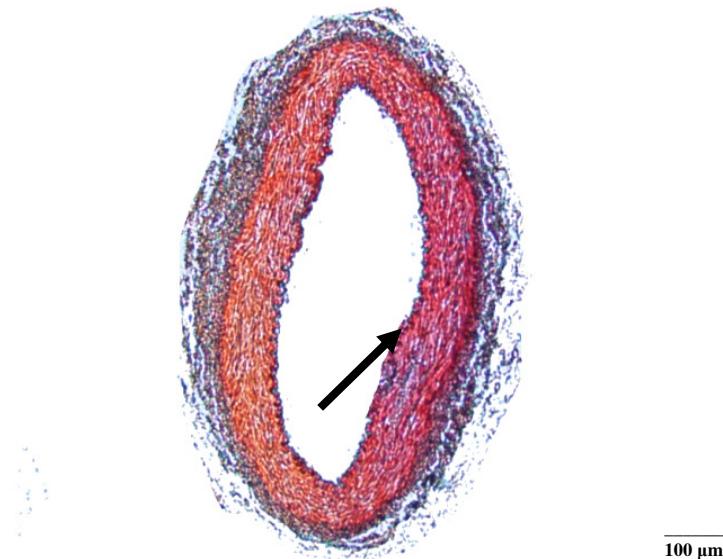
A artéria femoral direita nos grupos G2 e G3, dos animais em que foi administrada dieta hiperlipidêmica, não apresentou espessamento do endotélio e formação de células espumosas, como demonstram as figuras 18 e 19.

Figura 18: Grupo 2 – Artéria Femoral Direita - sem espessamento subendotelial (seta). 4X



Fonte: Autora, 2011.

Figura 19: Grupo 3 - Artéria femoral Direita- sem espessamento subendotelial (seta). 4X



Fonte: Autora, 2011.

A mensuração do espessamento do endotélio foi realizada na artéria aorta, dos grupos que ingeriu a dieta hiperlipidêmica — as artérias carótidas e femorais não apresentaram alterações histológicas, conforme demonstrado (Tabelas 7 e 8).

Tabela 7 – Média em percentual de espessamento da camada subendotelial do arco aórtico em micrômetro (μm) no grupo hiperlipidêmico (G2).

Animal	Parede Total (cm)	Camada Íntima (cm)	% de Espessamento
Média	4,3%	2,3%	55,65%

Fonte: Autora, 2011.

Na análise do espessamento subendotelial do arco aórtico, observou-se que o grupo hiperlipidêmico (G2) apresentou uma média de 55,65%.

Tabela 8 – Média em percentual de espessamento de camada subendotelial do arco aórtico em micrômetro (μm) no grupo tratado (G3).

Animal	Parede Total (cm)	Camada Íntima (cm)	% de Espessamento
Média	6,7%	4%	57,55%

Fonte: Autora, 2011.

O grupo tratado (G3) apresentou uma média de 57,55% de espessamento endotelial no arco aórtico. O percentual foi maior em relação ao grupo que ingeriu apenas a dieta hiperlipidêmica. Verifica-se que a administração do ômega-3 não foi capaz de reduzir a formação da placa, assim, também, não tendo efeito preventivo.

6 DISCUSSÃO

6.1 Aterosclerose

A aterosclerose é uma condição de patogenia extremamente complexa, em virtude dos diversos fatores envolvidos, sendo considerada uma das principais doenças da atualidade, portanto, o interesse nos mecanismos implicados no processo aterogênico é justificável, quando se verifica que grande parte das mortes ocorridas é decorrente de síndromes isquêmicas relacionadas à doença aterosclerótica. Sabe-se que, entre os fatores que desencadeiam a aterosclerose, está a dieta gordurosa com o ácido graxo saturado, pois este aumenta os níveis de colesterol total e frações; triglicérido; bem como a baixa taxa do HDL (CASTRO et al., 2004; CHACRA; DIAMENT; FORTI, 2005). Os nossos resultados mostram que a dieta hiperlipidêmica comprova a formação da aterosclerose nos coelhos, no modelo utilizado. O aumento dos níveis plasmáticos do colesterol e suas frações, do triglicérido e a diminuição do HDL, comprovam com os dados encontrados neste estudo, após um mês da dieta hiperlipidêmica, e corroboram com os achados por outros pesquisadores (SANTOS, 2008; SUZUKI, YEUNG; IKENO, 2008; DORNAS et al., 2010).

Sendo considerada uma doença inflamatória, a aterosclerose compromete principalmente as artérias de grande e médio calibre, tais como o arco aórtico, femorais e carótidas (OLIVEIRA, 1984; HASSON, 2001; MA et al., 2008; DIJK et al., 2010) em que a camada subendotelial da artéria é o local onde se desenvolve o processo aterosclerótico, podendo deixar obstruída a luz do vaso (HILTUNEN et al., 2002; WADDINGTON et al., 2003; HUR et al., 2005; GALKINA et al., 2006). Esses dados confirmam com os resultados deste estudo, em que se observou a formação da doença aterosclerótica em artéria de grande calibre, como o arco aórtico, onde houve a formação com células espumosas e espessamento na camada subendotelial, confirmando com os resultados dos pesquisados (SANTOS, 2008).

A maioria das discussões decorrem em torno do desenvolvimento da aterosclerose, sendo que o processo é lento no homem, e tem início com a vida, quando as estrias de gorduras aparecem na camada íntima da artéria aorta a partir dos 3 anos, sendo mais prejudicial a partir da vida adulta (GIROLDO; ALVES;

BAPTISTA, 2007; LI et al., 2008; SANTOS; BORTOLOZO, 2008;). Diferente do coelho, em que o desenvolvimento do processo aterosclerótico é rápido, por meio da indução de dieta hiperlipidêmica, pois em poucas semanas ocorrem alterações das lipoproteínas (JONGSTRA-BILEN, et al., 2006; DORNAS et al., 2010). Estas informações confirmam os resultados deste estudo, em que o nível do colesterol total alcançou uma média alta já no primeiro mês de experimento.

O estudo com coelho é realizado, devido ao aspecto da lesão na camada subendotelial no animal ter vários aspectos semelhantes na estrutura e composição encontrada no humano, sendo o desenvolvimento daquele animal mais rápido no processo aterosclerótico, e assim se poder administrar determinada substância para o tratamento (CONSTANT, 2004; ZHANG; XU; LI, 2009). Estes dados são precisos, porque o coelho é considerado um excelente modelo de estudo, pois além do desenvolvimento da aterosclerose em curto prazo e baixo custo, em se utilizando gema de ovo, o animal é de fácil manuseio (STAHLKE JÚNIOR et al., 2004; LEE et al., 2005; SANTOS, 2008). Estas informações foram confirmadas com os resultados deste estudo, em que a formação da aterosclerose foi verificada aos 99 dias.

6.2 Dieta hiperlipidêmica no Processo da Aterosclerose

Os níveis de colesterol total, LDL, VLDL e triglicerídeos aumentam rápido, no coelho. Este fato ocorre devido à lenta excreção da ingestão da dieta hiperlipídica (IHARA et al., 1998). Sendo assim, pesquisadores como Santos, (2008); Jorge et al., (1997) utilizaram coelhos adultos nos experimentos com dieta rica em colesterol, porque esses desenvolvem o processo da aterosclerose mais facilmente do que coelhos jovens. Ao iniciar uma dieta aterogênica, rica em colesterol e gordura saturada, os níveis das lipoproteínas aumentam em curto prazo (GIROLDO; ALVES; BAPTISTA, 2007; KOLANKIEWICZ; GIOVELLI; BELLINASSO, 2008; LANCELLOTTI; BOARELLI; MONCLUS, 2010; WAQAR et al., 2010). Essas informações coincidem com as observadas nos resultados deste estudo, em que a dieta hiperlipidêmica elevou os níveis das lipoproteínas, e esta atingiu o nível superior a 1.100 mg/dL.

Estudo, utilizando gema de ovo de galinha, foi administrado em animal para

esclarecer os processos envolvidos na aterosclerose, como também o metabolismo lipídico, como o experimento realizado por Ignatowski, que administrou gema de ovo, carne e leite, para mostrar que as lesões eram muito parecidas com a aterosclerose humanas, e foi verificado o espessamento na aorta de coelho (IGNATOWSKI apud DORNAS et al., 2010). Confirmando o experimento de Ignatowski (apud CONSTANT, 2004) induziu apenas gema de ovo de galinha e produziu a aterosclerose em coelhos. Essas afirmações confirmam os resultados do experimento realizado neste estudo, em que a dieta hiperlipidêmica apenas utilizando gema de ovo de galinha comprovou que em 99 dias os níveis dos lipídeos aumentaram e produziram com eficácia a aterosclerose, sem que fosse necessário acrescentar colesterol purificado, corroborando com o experimento de Santos (2008) em que comprova que o coelho é um animal excelente para induzir aterosclerose, já que esse tem um metabolismo lento e apresenta facilidade de absorção de dieta com gordura, e que desenvolvem lesões em curto prazo.

Comparando as dietas utilizadas nos experimentos, oferecida aos animais para induzir aterosclerose, com o objetivo de formar placas ateromatosas, pesquisadores administraram ração comercial suplementada com uma gema de ovo acrescentada com 13,5 mL de óleo de milho (JALDIN et al., 2005). No experimento de Clubb Jr et al. (1989) foi oferecido colesterol, contendo 3,3-4,4 mg. Jorge et al. (1997) utilizou 0,5% de colesterol, sendo manipulado com ração, produzindo uma dieta de laboratório. Porém este modelo de dieta não é preciso, pois os autores não podem garantir que todos os animais irão ingerir a quantidade de ração ou a gordura desejada. Nikolai Anitchkow administrou gema de ovo de galinha em coelhos, para induzir aterosclerose, porém a quantidade utilizada não foi esclarecida.

Santos (2008) utilizou com eficácia 20 mL de gema de ovo de galinha em seu experimento, e foi desenvolvida a aterosclerose nos coelhos. Esses dados foram utilizados em nosso experimento, comprovando que 20 mL de gema são suficientes para a formação da aterosclerose, sendo a administração dividida em duas tomadas, com dose de 10 mL, para evitar problemas intestinais nos coelhos e, assim, a pesquisa fosse interrompida.

Estudos com modelos experimentais para desenvolver aterosclerose, afirmam que coelhos submetidos à dieta hiperlipidêmica, com gema de ovo de galinha,

desenvolveram lesões ateroscleróticas similares às encontradas em humanos, sendo o colesterol da dieta considerado precursor para o desenvolvimento de doença aterosclerótica. Segundo Ramalho et al. (2007) a concentração do colesterol em ovos de galinha é de 956 mg/100g. Por ter um alto teor de lipídios, o ovo é considerado importante para o desenvolvimento da aterosclerose, além do aumento significativo na concentração de colesterol plasmático (JALDIN et al., 2006) com os níveis elevados em mais de 1.000 mg/dl (DORNAS et al., 2010). Correspondendo aos resultados do experimento deste estudo, essas evidências são fidedignas, indicando a importância do tipo de gordura em relação ao risco da doença cardiovascular; comprovando que a dieta rica em colesterol e gordura saturada tem graves consequências para a saúde.

6.3 Análise Histopatológica da Formação da Placa Aterosclerótica

A placa ateromatosa é formada em locais distintos no sistema arterial. As artérias mais comprometidas são aorta e carótidas (JALDIN et al., 2006; DIJK et al., 2010). A aorta é a mais estudada para mensuração do espessamento — este fato ocorre devido à força de cisalhamento, principalmente nas bifurcações. O desenvolvimento das lesões foram diferentes nos diversos experimentos. Como no de Gómez-Garre et al. (2009) a lesão foi desenvolvida na artéria femoral. Já nos experimentos de Jorge et al. (1997); Sthalke Júnior et al. (2004) e González-González; Diago-Santamaría; Vaquero-Puerta (2005) os coelhos desenvolveram lesão na aorta. Semelhantes aos achados de Prasad, (1999); Lee et al. (2004); Das et al. (2006) e Jorge et al. (2005); que verificaram o espessamento na artéria aorta; esse dado está em conformidade com o resultado deste estudo, em que as placas foram desenvolvidas na artéria aorta, precisamente no arco aórtico.

As lesões ateroscleróticas são iniciadas pela agressão ao endotélio, seguidas pela migração das LDL para a camada íntima da artéria, tornando-se oxidadas, e, então, se dá início ao processo aterosclerótico e seu desenvolvimento. Por meio de dieta hiperlipidêmica, os coelhos tornam-se rapidamente hipercolesterolêmicos, e as lesões resultantes consistem primariamente de macrófagos, derivados de células espumosas (DORNAS et al., 2010) sendo essas as lesões encontradas nos resultados deste estudo.

As alterações histopatológicas da aterosclerose ocorrem na parede do vaso. Para a classificação das lesões foi adotada pela AHA seis tipos, segundo Stary (apud GIANNINI, 2000). Na análise da morfologia da placa no arco aórtico, nos resultados deste estudo, foram observadas lesões do tipo I e II. Sendo que a lesão do tipo I ocorre com a adaptação do espessamento do vaso, com depósitos de lipídeos na camada subendotelial, chamadas de estrias gordurosas (COTTIN et al., 2001; KHARBANDA; MACALLISTER, 2005).

Em estudo com coelhos hipercolesterolêmicos foi observada a primeira alteração que ocorre nas artérias, com a aderência de monócitos ao endotélio (FRANÇA; FRANÇA, 2001). Os resultados deste estudo mostram que houve a formação de células espumosas no arco aórtico. A lesão do tipo I consiste de camadas de macrófagos, células espumosas e são designadas como estrias gordurosas (STARY et al., 1995; ASGARY; SABERI; AZAMPANAH, 2007) o que confirma os resultados deste estudo, em que se verificou o espessamento da camada subendotelial no arco aórtico dos coelhos, tanto do grupo G2, como no G3, com a administração de ômega-3, estando em concordância com os pesquisadores, que relataram ser a aorta o local de eleição para a formação da aterosclerose, principalmente em suas bifurcações (ARAÚJO, 2007; HASTINGS et al., 2007).

Em pesquisas experimentais é utilizada dieta rica, contendo colesterol, para avaliar se houve o espessamento da camada subendotelial da artéria. A porcentagem alta de colesterol em gordura saturada provoca a formação de placas ateroscleróticas (WAQAR et al., 2010) e podem obstruir o lúmen do vaso (RAMOS et al., 2007) por meio de lesões avançadas (FRANÇOZO; COATES, 2002). Nos resultados deste estudo foi observado o espessamento subendotelial no arco aórtico, nos dois grupos em que foi administrada a dieta hiperlipidêmica. No entanto, no grupo G2, a média do espessamento subendotelial foi de 55,65%, já no grupo G3 foi verificado maior espessamento, com média de 57,55% — embora tenha sido administrado ômega-3, não houve obstrução total dos vasos afetados durante os 99 dias, e nenhum óbito dos animais. Não foi observado efeito preventivo do ômega-3 na dose utilizada, na formação da lesão subendotelial.

Hansson (2001); Ma et al. (2008) e Dijk et al. (2010) citam que as artérias de grande e médio calibre, como a carótida e a femoral, são os locais onde mais ocorre

o processo da formação da aterosclerose. No entanto, os achados nos resultados deste estudo não mostraram nenhuma alteração histológica nesses vasos.

6.4 Ômega-3 na prevenção da aterosclerose

O interesse pelo uso do ômega-3 vem desde a década de 70, quando Bang e Dyerberg relataram que os esquimós apresentavam baixas taxas com relação à doença cardiovascular (TORREJON; JUNG; DECKELBAUM, 2007 apud LAVIE et al., 2008). No entanto, é importante salientar que existem outros fatores que contribuem com a baixa taxa de doença cardiovascular, como o fator genético ou a qualidade de vida dessa população.

Existem muitas controvérsias em relação ao uso dos ácidos graxos ômega-3, em relação à redução dos níveis de CT. Como em trabalho realizado com humanos, Lindsey, Pronczuk e Hayes (1992) citam que não houve alteração nos níveis de colesterol, este resultado é diferente ao de Clubb Jr et al. (1989) que realizaram experimento com coelhos machos e fêmeas, e o resultado foi a redução significativa em 35% e 50% — respectivamente — nas concentrações dos níveis de CT. Porém, analisando os resultados do experimento de Jorge et al. (1997) esses são contrários aos encontrados apenas em coelhos machos, em que os níveis plasmáticos de CT aumentaram. Os resultados deste estudo são semelhantes aos encontrados no experimento de Jorge et al. (1997) em que, apesar de o resultado ter sido não significativo em relação ao grupo tratado e o grupo hiperlipidêmico, os níveis do grupo tratado (G3) foi maior em relação ao grupo hiperlipidêmico (G2). Os níveis do CT não reduziram com a ingestão dos ácidos graxos ômega-3. Os achados encontrados neste trabalho são contraditórios aos dos pesquisadores, sendo necessário esclarecer o efeito do ômega-3 nos níveis do colesterol total, para que a população não faça uso de uma substância que eleve os níveis do CT, trazendo prejuízo para a saúde.

Estudos realizados para verificar o efeito do ômega-3 nos níveis do LDL são contraditórios nos experimentos, em que os pesquisadores Stalenhoef et al. (1999) e Simão et al. (2007) descrevem o aumento dos níveis de LDL — esses resultados são semelhantes ao deste estudo. Sendo diferente dos resultados encontrados por Lindsey, Pronczuk e Hayes (1992) que citam o fato de que os níveis de LDL

permaneceram inalterados, sendo semelhante aos resultados de Jorge et al. (1997) e Campos et al. (1989) em que não ocorreram variações significantes nos níveis encontrados. Os resultados encontrados nas pesquisas, com relação ao experimento deste estudo são diferentes, pois a ingestão do ômega-3 não reduziu os níveis lipídicos do LDL, mas aumentaram de 20 mg/dL para 1000 mg/dL, aos 99 dias do experimento no grupo tratado.

Os níveis de VLDL, nos resultados deste estudo, aumentaram durante o experimento, sendo diferentes dos resultados encontrados por Clubb Jr et al. (1989) que afirmaram ter o ômega-3 reduzido os níveis de VLDL, contrariando os resultados de Jorge et al. (1997) que observaram aumento em 42% das VLDL em coelhos, corroborando com os resultados deste estudo; e contrário aos resultados de Simão et al. (2007) que não apresentou alteração nos níveis de VLDL em humanos. Já Simopoulos (1991) e Stalenhoef et al. (1999) afirmam que a redução na secreção de VLDL ocorre pela oxidação no aumento de ácidos graxos. Os resultados confrontam-se em relação ao efeito do ômega-3, em reduzir as VLDL. Esse fato deve ser esclarecido melhor. Sabe-se que parte do colesterol é produzido pelo fígado, e o ácido graxo ômega-3, dependendo do tempo em que é ingerido, pode interferir na oxidação das VLDL. Como também, não é apenas a ingestão de ácido graxo poli-insaturado que faz com que os níveis sejam reduzidos, pois a dieta equilibrada com menos colesterol e gorduras saturadas, e o fator genético interferem no aumento dos níveis das VLDL.

A ação da ingestão de ômega-3 nos níveis do HDL, aos 33 dias, aumentou de 20 mg/dL para 50 mg/dL. Porém baixou aos 66 e 99 dias, apesar de o resultado não ter sido significativo entre os grupos G2 e G3, sendo os níveis mais baixos no grupo que ingeriu o ômega-3. Os resultados deste estudo são semelhantes aos de Jorge et al. (1997) em que não ocorreu variação nos níveis de HDL; diferente dos resultados encontrados por Campos et al. (1989) em que não houve diferenças significativas. Para Lindsey, Pronczuk e Haye (1992) os níveis permaneceram inalterados, e contrários aos resultados de Stalenhoef et al. (1999) em que o ômega aumentou os níveis do HDL. Os resultados deste estudo não diferem dos encontrados pelos autores, conforme descrevem Jung et al. (2008) e a Sociedade Brasileira de Cardiologia (2007) ao citarem que o ômega-3 pode não reduzir os níveis do HDL,

corroborando com os resultados deste estudo, e assim tornando um fator de risco para a aterosclerose, já que esse é considerado um bom colesterol.

Pesquisas realizadas tanto com coelhos como em humanos mostram os efeitos benéficos do ômega-3 na redução sobre os níveis de triglicerídeos, porém os resultados deste estudo são contrários aos pesquisados na literatura. Neste estudo foi encontrado níveis de triglicerídeos aumentados durante o experimento — aos 33 dias os níveis eram de 100 mg/dL e passaram para 300 mg/dL aos 99 dias, sendo contrários aos resultados de Jorge et al. (1997); Lindsey, Pronczuk e Hayes (1992); Stalenhoef et al. (1999) quando mostraram que houve redução nos níveis de triglicerídeos, e este fato também torna um fator de risco para a aterosclerose.

Os ácidos graxos ômega-3 são citados por Schacky; Harris (2006) em relação a produzir vários benefícios à saúde humana, principalmente nas doenças cardiovasculares, na prevenção ao infarto do miocárdio e ao acidente vascular encefálico. Estes efeitos sobre o mecanismo de ação não estão esclarecidos. Dietas acrescidas com ômega-3 poderiam melhorar o perfil lipídico, tanto em humanos quanto em animais, e assim reduzir os riscos de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (SCHACKY; HARRIS, 2007; BAYS, 2008; SANTOS; BORTOLOZO, 2008).

Estudos mostram que um dos efeitos do ômega-3 é diminuir os níveis de triglicerídeo (SCHACKY; HARRIS, 2007; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007). E um achado importante neste trabalho foi que os níveis aumentaram, sendo os resultados deste estudo foram contraditórios em relação aos pesquisados; destacando-se a diminuição das concentrações plasmáticas de triglicerídeos, citado nas pesquisas como um dos principais efeitos do ômega-3 (ANJO, 2004; MARTINEZ-GONZÁLEZ et al., 2006; TATARCZYK et al., 2007; SCHIANO et al., 2008). Nos resultados de Clubb Jr et al., (1989) os triglicerídeos reduziram em 50% nas coelhas, lembrando de que este fato pode ser devido à proteção hormonal das fêmeas, assim sendo contrários aos resultados desta pesquisa.

A maioria dos autores, entre eles, Thies, et al. (2003); Anjo (2004); Fornazzari et al. (2007); Sechi et al. (2007) ; Jung et al. (2008); Lavie et al. (2009); citam que a

ingestão de ácido graxo poli-insaturado ômega-3 transmite proteção nas doenças cardiovasculares, como também efeitos benéficos na aterosclerose. Apesar de não ter ocorrido óbito dos animais, neste estudo não foi comprovada a melhoria na prevenção da placa aterosclerótica, pois ocorreu a formação de células espumosas e, se ultrapasse aos 99 dias.

As dislipidemias estão entre os fatores que influenciam a doença aterosclerótica, com os níveis altos do colesterol total, LDL e triglicérido, e com o baixo nível do HDL. Assim, um dos mecanismos do ômega-3 está em reduzir as concentrações destes níveis plasmáticos, principalmente os triglicéridos, com exceção do HDL (SIMÃO et al., 2007; JUNG et al., 2008; SANTOS; BORTOLOZO, 2008). O que não foi confirmado nos resultados deste estudo, pois mostraram que os animais tratados com os ácidos graxos ômega3 elevaram o colesterol total, assim também as VLDL, LDL e baixou o nível das HDL, que é considerado um protetor da aterosclerose, quando o nível é mais alto que as LDL.

Experimentalmente, o processo da aterosclerose pode ser percebido com eficácia aos 99 dias de exposição a uma dieta hiperlipidêmica, (SANTOS, 2008) com espessamento da camada subendotelial, por formação de células espumosas, (DORNAS et al., 2010; ZHAO et al., 2007). De forma rápida, a atividade inflamatória torna-se nítida, com aumento de expressão de moléculas de adesão e migração celular, sendo a fase inicial com macrófagos repletos de colesterol, com as LDL oxidadas, (MISSEL, et al., 2009). Nos resultados das observações histológicas foi demonstrado que a dieta hiperlipidêmica associada ao nível de LDL e triglicéridos é responsável pelo espessamento aterosclerótico subendotelial. Quando comparamos o grupo de animais tratado em relação ao hiperlipidêmico, verificou-se que o ômega-3 não realizou nenhum efeito na prevenção da aterosclerose, pois todos os animais apresentaram espessamento e formação de células espumosas, com a dose de 221 mg. Clubb Jr et al., (1989) também observaram células espumosas, macrófagos e células musculares lisas em coelhos hipercolesterolêmicos; tratados com ômega-3, consumidos em média de 150 a 200 mg/kg/dia.

Com o aumento dos níveis lipídicos, verificou-se elevação do número de células espumosas na camada subendotelial arterial, nos dois grupos submetidos à dieta hiperlipidêmica. Por esses resultados, os ácidos graxos ômega-3 induziriam à

aterosclerose, agravando a peroxidação lipídica e elevando o colesterol plasmático — resultado não significativo entre os dois grupos: G1 e G2. Adelstein; Ferguson; Roger, (1992) verificaram elevações da LDL e também dos triglicerídeos nos animais tratados com ácidos graxos ômega-3, embora não constatassem diferença significativa com o grupo hipercolesterolêmico. Jorge et al. (1997) por outro lado, observaram redução dos triglicerídeos, e Yano et al. (1995) redução nas LDL, com coelhos tratados com ômega-3. Esses resultados também mostram que o ômega-3 pode não ter efeito hipolipidêmico, já que aumentou a peroxidação lipídica nas LDL, aumentando o processo da aterosclerose.

Vale ressaltar que os resultados nos níveis do perfil lipídico, aparentemente contraditório em relação aos resultados deste estudo com os de outros pesquisadores, um dos fatores pode ter relação com a espécie do coelho, ou com a dose ideal para a patologia, já que não está esclarecida, sendo administradas diferentes doses, como citado por diversos autores. O ômega-3, quando administrado em alta dose (4 a 10 g/dia), baixa os níveis de triglicerídeos e aumentam discretamente o HDL, segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia (2007). Em doses de 2 a 4 g/dia reduz a hipertrigliceridemia, (HOUSTON et al., 2009) e, para prevenção de doenças cardiovasculares e infarto do miocárdio, a ingestão de 1 g/dia (SCHARCKY; HARRIS, 2007; TATARCZYK et al., 2007). Neste estudo utilizou-se uma dose de 221 mg/kg para coelho com peso entre 2.3 kg a 3kg. Considerando que não foi uma dose baixa, em relação ao peso de um homem com 70 kg, e queingere uma cápsula de 1000 mg.

É importante salientar que as pesquisas mostram resultados positivos do ômega-3, em relação às doenças cardiovasculares, sendo a aterosclerose a principal consequência do infarto do miocárdio e dos acidentes vasculares encefálicos, causados pela obstrução parcial ou total dos vasos, provocada pelo aumento da placa aterosclerótica. Os resultados deste estudo não coincidem com os diversos estudos, principalmente em relação aos níveis do triglicerídeo. É importante também verificar os efeitos do ômega-3 no fígado, pois 75% do colesterol endógeno são produzidos por ele. As pesquisas visam a esclarecer o efeito do ômega em baixar os triglicerídeos e aumentar os níveis do HDL, sem observar quais são os efeitos no fígado.

É importante salientar que, se as pesquisas mostram resultados positivos do ômega-3 na prevenção de doença, como as cardiovasculares, são necessárias que novas pesquisas sejam realizadas, para confirmar os efeitos reais do ômega-3 em relação à saúde da população. Os resultados deste estudo sobre os ácidos graxos é que não têm efeito sobre a formação de células espumosas, como também não baixaram o nível do triglicerídeo. Esses dados sugerem que o ácido graxo ômega-3 — o óleo de peixe na dieta — pode acrescentar os níveis das lipoproteínas, e assim levando à hiperlipidemia.

O principal efeito do ômega-3 é baixar os níveis do triglicerídeo, que não foi observado neste estudo. Sendo assim, existe uma divulgação exagerada sobre os efeitos do ômega-3, pela indústria farmacêutica, em relação aos efeitos benéficos deste ácido graxo poli-insaturado. Os efeitos benéficos que foram encontrados nos esquimós da Groenlândia devem ser devido a diversos fatores, como o genético, o estilo de vida, pois a ação do mecanismo do ômega-3 ainda não está esclarecida, segundo os artigos pesquisados.

7 CONCLUSÃO

1. A dieta experimental com gema de ovo de galinha é eficaz para indução de aterosclerose experimental;
2. O ômega-3 não tem efeito preventivo na redução do espessamento aterosclerótico subendotelial com a dieta hiperlipidêmica, no modelo utilizado com a dose de 221 mg/kg;
3. O ômega-3 não reduz os níveis séricos do colesterol total, nem suas frações, ou o triglicérideo e não aumenta a fração do HDLc.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6029**: informação e documentação: livros e folhetos: apresentação. Rio de Janeiro, 2006.

_____. **NBR 14724**: informação e documentação: trabalhos acadêmicos: apresentação. Rio de Janeiro, 2011.

ABDALLA, D. S. P.; SENA, K. C. M. Lipid peroxidation biomarkers in atherosclerosis. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 21, n. 6, p. 749-756, 2008. ISSN 1415-5273.

ABDELHALIM, M. A. K; ALHADLAQ, H. A.; MOUSSA, S. A. Elucidation of the effects of a high fat diet on trace elements in rabbit tissues using atomic absorption spectroscopy. **Lipids Health Dis.**, London, v. 9, p. 2, 2010. ISSN 1476-511X.

ADELSTEIN, R.; FERGUSON, L. D; ROGER; K. A. Effects of dietary N-3 fatty acid supplementation on lipoproteins and intimal foam cell accumulation in the casein-fed rabbit. **Clin. Invest. Med.**, Quebec, v. 15, n. 1, p. 71-81, 1992. ISSN 0147-958X.

AFIUNE NETO, A. et al. Monocitose é um marcador de risco independente para a doença arterial coronariana. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 6, n. 3, mar. 2006. ISSN 0066-782X.

ANDER, B. P. et al. Distribution of omega-3 fatty acids in tissues of rabbits fed a flaxseed-supplemented diet. **Metab. Clin. Experimental**, Baltimore, v. 59, p. 620-627, 2010. ISSN 0026-0495.

ANDLAUER, W.; FÜRST, P. Nutraceuticals: a piece of history, present status and outlook. **Food Res. Int.**, Essex, v. 35, p. 171-176, 2002. ISSN 0963-9969.

ANDRANDE, P. M. M.; CARMO, M. G. T. N-3 fatty acids: a link between eicosanoids, inflammation and immunity. **Rev. MN- Metabólica**, v. 8, n. 3, p. 135, 2006.

ANJO, D. F. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **J. Vasc. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 2, p. 145-154, 2004. ISSN 1677-5449.

ARAB, G. et al. Función de los inhibidores de La hidroximetilglutaril coenzima A reductasa eb La enfermedad cardiovascular. **Arch. Venez. Farmacol. Ter.**, Caracas, v. 22, n. 1, p.13-18, 2003. ISSN 0798-0264.

ARAÚJO, L. A. Correlação entre dieta lipídica poliinsaturada e aterogênese. **Rev. Bras. Angiol. Cir. Vasc.**, São Paulo, v. 5, p. 15-22, set./out. 2007. ISSN 0102-8537.

ASGARY, S.; SABERI, S. A.; AZAMPANAH, S. Effect of immunization against ox-LDL with two different antigens on formation and development of atherosclerosis. **Lipids Health Dis.**, v. 6, p. 32, 2007. ISSN 1476-511X.

BAYS, H. Rationale for prescription Omega-3 – acid ethyl ester therapy for hypertriglyceridemia: a primer for clinicians. **Drugs Today (Barc.)**, Barcelona, v. 44, n. 3, p. 205-46, 2008. ISSN 1699-3.

BAMPI, A. B. A. et al. Comparison of non-invasive methods for the detection of coronary atherosclerosis. **Clinics**, São Paulo, v. 64, n. 7, p. 675-82, 2009. ISSN 1807-5932.

BARONE, R. et al. **Atlas d'anatomie du lapin, atlas of rabbit anatomy**. Paris: Masson, 1973.

BENTZON, J. F.; FALK, E. Circulating smooth muscle progenitor cells in atherosclerosis and plaque rupture: current perspective and methods of analysis. **Vascul. Pharmacol.**, New York, v. 52, p. 11-10, 2010. ISSN 1537-1891.

BJERVE, K. et al. Omega-3 fatty acids: essential fatty acids with important biological effects, and serum phospholipid fatty acids as markers of dietary ω 3 – fatty acid intake ¹⁻³. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v. 57, p. 801S-806S, 1993. ISSN 0002-9165 .

BISCIONE, F. et al. Cardiovascular effects of omega-3 free fatty acids. **Current Vascul. Pharmacol.**, New York, v. 5, p. 163-172, 2007. ISSN 1537-1891.

BRAGA, A. A. D.; BARLETA, V. C. N. Alimento funcional: uma nova abordagem terapêutica das dislipidemias como prevalência da doença aterosclerótica. **Cadernos UniFOA**, Volta Redonda, a. 2, n. 3, mar. 2007. ISSN 1809-9475. Disponível em: <<http://www.unifoa.edu.br/pesquisa/caderno/edição/o3/100.pdf>>. Acesso em: 30 abr. 2008.

BRAGAGNOLO, N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Comparison of the cholesterol content of Brazilian chicken and quail eggs. **J. Food Compos. Anal.**, San Diego, v. 16, n. 2, p. 147-153, 2003. ISSN 0889-1575.

BRESLOW, J. L. n-3 Fatty Acids and cardiovascular disease. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v. 83, n. 6, p. S1477-1482S, 2006. ISSN 0002-9165 .

CABALLERO, R. et al. Farmacología de los ácidos grasos omega-3. **Rev. Esp. Cardiol. Supl. (Ed. Impresa)**, v. 6, p. 3D-19D, 2006. ISSN 1131-3587.

CAMPOS, C. T. et al. Dietary marine oil supplements fail to affect cholesterol metabolism or inhibit atherosclerosis in rabbits with diet-induced hypercholesterolemia. **Surgery (Oxf.)**, Oxford, v. 106, n. 2, p. 177-84, 1989. ISSN 0263-9319.

CARVAJAL, O.; ÂNGULO, O. Effect on n-3 polyunsaturated fatty acids on the lipidic profile of healthy Mexican volunteers. **Salud Pública Méx.**, México, v. 35, p. 3, 1997. ISSN 0036-3634.

CASTRO, L. C. V. et al. Nutrition and cardiovascular diseases: the risk markers in adults. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 369-377, 2004. ISSN 1415-5273.

CASTRO, I. A.; BARROSO, L. P.; SINNECKER, P. Functional foods for coronary heart disease risk reduction: a meta-analysis using a multivariate approach. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v. 82, p. 32-40, 2005. ISSN 0002-9165.

CHACRA, A. P. M.; DIAMENT, J.; FORTI, N. A. Classificação das dislipidemias. **Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, São Paulo, v. 6, p. 465-72, 2005. ISSN 0103-8559.

CHEN, Y. L.; CHANG, Y.; JIANG, M. J. Monocyte chemotactic protein-1 gene and protein expression in atherogenesis of hypercholesterolemic rabbits. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v. 143, p. 115-123, 1999. ISSN 0021-9150.

CHUMAEVA, N. et al. Sex differences in the combined effect of chronic stress with impaired vascular endothelium functioning and the development of early atherosclerosis: the cardiovascular risk in young finns study. **BMC Cardiovasc. Disord.**, London, v. 10, p. 1186-1471, Jul, 2010. ISSN 1471-2261.

CLUBB JR, F.J. et al. Effect of dietary omega-3 fatty acid on serum lipids, platelet function, and atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. **Arterioscler. Thrombos. Vasc. Biol.**, Dallas, v. 9, p. 529-537, 1989. ISSN 1079-5642.

CONSTANT, J. The role of eggs, margarines and fish oils in the nutritional management of coronary artery disease and strokes. **Keio. J. Med.**, Tokyo, v. 53, n. 3, p. 131-136, 2004. ISSN 0022-9717.

CONNOR, W. E. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v. 71, p. 171S-175S, 2000. ISSN 0002-9165.

COTTIN, Y. et al. Intravascular radiation accelerates atherosclerotic lesion formation of hypercholesteremic rabbits. **Cardiovasc. Radiat. Med.**, New York, v. 2, p. 231-240, 2001. ISSN 1522-1865.

DAS, S. et al. Effect of ascorbic acid on prevention of hypercholesterolemia induced atherosclerosis. **Mol. Cell. Biochem.**, The Hague, v. 285, p. 143-147, 2006. ISSN 0300-8177.

DE LA CRUZ, J. P. et al. Effect of evening primrose oil on platelet aggregation in rabbits fed on atherogenic diet. **Thromb. Res.**, Elmsford, v. 87, n.1, p.141-149, 1997. ISSN 0049-3848.

DEFILIPPIS, A. P.; SPERLING, L. S. Understanding omega-3's. **Am. Heart J.**, St. Louis, v.151, p. 3, 2006. ISSN 0002-8703.

DENARDI, C. A. S.; CASELLA FILHO, A.; CHAGAS, A. C. P. A proteína C-reativa na atualidade. **Rev. SOCERJ.**, Rio de Janeiro, v. 21, p. 5, p. 329-334, 2008. ISSN 0104-0758.

DIJK, R. A. et al. The natural history of aortic atherosclerosis: A systematic histopathological evaluation of the peri-aortic region. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v. 210, p. 100-106, 2010. ISSN 0021-9150.

DORNAS, W. C. et al. Experimental atherosclerosis in rabbits. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 95, p. 2, p. 272-278, 2010. ISSN 0066-782X.

DUDA, M. K.; O'SHEA, K. M.; STANLEY, W. C. v-3 polyunsaturated fatty acid supplementation for the treatment of heart failure: mechanisms and clinical potential. **Cardiovasc. Res.**, London, v. 84, p. 33-41, 2009. ISSN 0008-6363.

DUQUE, F. L. V. Aterosclerose. **Rev. SBACV**, Rio de Janeiro, v.10, 1998. ISSN 0104-7752.

DURAZZO, A. E. S. et al. Peripheral obstructive arterial disease: what kind of clinical treatment are we recommending to our patients? **J. Vasc. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 4, p.3, 255-264, 2005. ISSN 1677-5449.

DURRINGTON, P. Dyslipidaemia. **Lancet.**, London, v. 362, p. 717-731, 2002. ISSN 0140-6736.

EL-BRADY, A. M.; GRAF, R.; CLAVIEN, P. A. Omega 3 – omega 6: what is right for the liver? **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 47, p. 718-725, 2007. ISSN 0168-8278.

FARIA NETO, J. R.; CHAGAS, A. C. P.; LUZ, P. L. Síndromes coronárias: avanços na fisiopatologia. **Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, São Paulo, v. 1, p.100-110, 1999. ISSN 0103-8559.

FERREIRA, A. B. H. **Mini Aurélio**: dicionário da língua portuguesa. 6. ed. Rio de Janeiro: Positivo, 2006.

FINKING, G; HANKE H. Nikolaj Nikolajewitsch Anitschkow (1885-1964) established the cholesterol-fed rabbit as a model for atherosclerosis research. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v. 135, n. 1, p.1-7, 1997. ISSN 0021-9150.

FISHBEIN, G. A; MICHAEL, B. S; FISHBEIN, M. D. Arteriosclerosis rethinking the current classification. **Arch. Pathol. Lab. Med. (1926)**, Chicago, v. 133, n.8, p.1309-1316, Aug. 2009. ISSN 0096-8528.

FORNAZZARI, I. M. et al. Ácido graxo ômega 3 e a saúde humana. In: SEMANA DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS, 5., 2007. Ponta Grossa. **Anais...** Ponta Grossa: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2007.

FRANÇA, T. A.; FRANÇA, N. A. A. C. Aspectos morfológicos e citopatológicos das lesões ateroscleróticas em crianças e adolescentes e sua aterogênese. **Pediatria**, São Paulo, n. 1, p.10-6, 2001. ISSN 0120-6311.

FRANÇOSO, L. A.; COATES, V. Evidências anatomopatológicas do início da aterosclerose na infância e adolescência. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v.78, n.1, p. 131-6, 2002. ISSN 0066-782X.

FREITAS, E. V. Triglicerídeos e doenças arterial coronariana. **Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, São Paulo, v. 6, p. 465-472, 2004. ISSN 0103-8559.

GALKINA, E. et al. Lymphocyte recruitment into the aortic all before and during development oftherosclerosis is partially L-selectin dependent. **J. Exp. Med.**, New York, v. 203, n. 5, p. 1273-1283, 2006. ISSN 0022-1007.

GARÓFOLO, A.; PETRILLI, A. S. Omega-3 and 6 fatty acids balance in inflammatory response in patients with câncer and cachexia. **Rev. Nutr., Campinas.**, v. 19, n. 5, p. 611-621, 2006. ISSN 1678-9865.

GAUDIO E. et al. Morphological aspects of atherosclerosis lesion: past and present. **Clin. Ter.**, Roma, v. 157, n. 2, p.135-142, 2006. ISSN 0009-9074.

GIANNINI, S. D. História natural da aterosclerose. **Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, São Paulo, v. 10, n. 6, p. 677-685, 2000. ISSN 0103-8559.

GIROLDO, M. L.; ALVES, A. S.; BAPTISTA, F. Doença aterosclerótica: uma patologia multifatorial. **SaBios: Rev. Saúde e Biol.**, v. 2, n. 1, p. 32-41. 2007. ISSN 1982-792X.

GISSI - Prevenzione investigators: dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI - prevenzione trial. **Lancet**, London, v. 354, p. 447-455, 1999. ISSN 0140-6736.

GOMES, A. P. F.; CARMO, M. G. T. Dislipidemia pós-prandial e doença cardiovascular. **Rev. Bras. Nutr. Clin.**, Porto Alegre, v. 21, n. 1, p. 60-71, 2006. ISSN 0103-7196.

GÓMEZ-GARRE, D. et al. Ezetimibe reduces plaque inflammation in a rabbit model of atherosclerosis and inhibits monocyte migration in addition to its lipid-lowering effect. **Br. J. Pharmacol.**, London, v. 156, n. 8, p. 1218–1227, 2009. ISSN 0007-1188.

GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, M. E.; DIAGO-SANTAMARÍA, M. V.; VAQUERO-PUERTA, C. Estudio comparativo de la reparación intimal de la aorta de animales jóvenes y viejos ateromatosos. **Angiol. (Barcelona)**, Barcelona, v. 57, v. 1, p. 47-60, 2005. ISSN 0003-3170.

GOTTLIEB, M. G. V.; BONARDI, G.; MORIGUCHI, E. H. Fisiopatologia e aspectos inflamatórios da aterosclerose. **Scientia Medica**, Porto Alegre: PUCRS, v. 15, n. 3, p.203-207, jul./set. 2005. ISSN 1806-5562.

GROSS, S. et al. Vascular wall-produced prostaglandin E2 exacerbates arterial thrombosis and atherothrombosis through platelet EP3 receptors. **J. Exp. Med.**, New York, v. 204, p. 19, 2007. ISSN 0022-1007.

HAHN, C.; SCHWARTZ, M. A. Mechanotransduction in vascular physiology and atherogenesis. **Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.**, London, v. 10, p.53–62, 2009. ISSN 1471-0072.

HANSSON, G. K. Immune mechanisms in atherosclerosis. **Arterioscler. Trombos. Vasc. Biol.**, Dallas, v. 21, p. 1876-1890, 2001. ISSN 1079-5642.

HANSSON, G. K; NICOLETTI, A. Autoimmune aspects of atherosclerosis. **Atherosclerosis and Autoimmuty**, v. 55, p.45-52, 2001.

HARRIS, W.S. et al. Omega-3 fatty acids coronary heart disease risk: clinical and mechanistic perspectives. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v. 197, p. 12-24, 2008. ISSN 0021-9150.

HASTINGS, N. G. et al. Atherosclerosis-prone hemodynamics differentially regulates endothelial and smooth muscle cell phenotypes and promotes pro-inflammatory priming. **Am. J. Physiol. Cell. Physiol.**, Bethesda, v. 293, p. C1824-C1833, 2007. ISSN 0363-6143.

HENRIQUE, C.C. **A nova ortografia: o que muda com o acordo ortográfico**. 5. reimp. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

HILTUNEN, M. O. et al. Changes in gene expression in atherosclerotic plaques analyzed using DNA array. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v. 165, p. 23-23, 2002. ISSN 0021-9150.

HIRAYAMA, K. B.; SPERIDIÃO, P. G. L.; FAGUNDES NETO, U. Ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa. **Electron. J. Pediatr. Gastroenterol., Nutr. LIVER Dis.**, São Paulo, v.10, n. 3, p.1-10, 2006. ISSN 1519-1451.

HOUSTON, M.C. Nutraceuticals, vitamins, antioxidants, and minerals in the prevention and treatment of hypertension. **Prog. Cardiovasc. Dis.**, New York , v. 47, n. 6, p. 396-449, 2005. ISSN 0033-0620.

HOWARD-ALPE, G. M.; SEAR, J. W., FOEX, P. Methods of detecting atherosclerosis in non-cardiac surgical patients: the role of biochemical markers. **Br. J. Anaesth.**, Altrincham, v. 97, n. 6, p. 758-769, 2006. ISSN 0007-0912.

HOY, S. M.; KEATING, G. M. Omega-3 ethylester concentrate: a review of its use in secondary prevention post-myocardial infarction and the treatment of hypertriglyceridaemia. **Drugs**, New York, v. 69, n. 8, p. 1077-1105, 2009. ISSN 0012-6667.

HSU, H-C; LEE, Y-T; CHEN, M-F. Effects of fish oil and vitamin E on the antioxidant defense system in diet-induced hypercholesterolemic rabbits. **Prostaglandins Other Lipid Mediat.**, Los Altos, v. 66, p. 99-108, 2001. ISSN 1098-8823.

HU, F. B. et al. Fish and omega-3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease in women. **JAMA.**, Chicago, v. 287, n. 14, p. 1815, 2002. ISSN 0098-7484.

HUR, S. J. et al. Effect of dietary fats on blood cholesterol and lipid and the development of atherosclerosis in rabbits. **Nutr. Res.**, New York, v. 25, p. 925-935, 2005. ISSN 0271-5317.

- HYAFIL, F. et al. Quantification of inflammation within rabbit atherosclerotic plaques using the macrophage-specific CT contrast agent N1177: A comparison with ¹⁸F-FDG PET/CT and histology. **J. Nucl. Med.**, New York, v. 50, n. 6, p. 959-965, 2009. ISSN 0161-5505.
- IHARA, S. S. M. et al. Coelhos alimentados com dieta rica em colesterol: modelo experimental para o estudo da aterosclerose. **NewsLab.**, São Paulo, v. 6, n. 27, 1998. ISSN 0104-8384
- INNIS, S. M. Dieraty omega 3 fatty acids and the developing brain. **Brain Res.**, Amsterdam, v. 1237, p. 35-44, 2008. ISSN 0006-8993.
- JALDIN, R. G. et al. O processo aterosclerótico em artérias de coelhos submetidos a dieta suplementada com gema de ovo: modelo experimental de baixo custo. **J. Vasc. Bras.**, São Paulo, v. 5, n. 4, p. 247-256, 2006. ISSN 1677-5449.
- JONGSTRA-BILEN, J. et al. Low-grade chronic inflammation in regions of the normal mouse arterial intima predisposed to atherosclerosis. **J. Environ. Med.**, Chichester, v. 203, n. 4, p. 2073–2083, Sept. 2006. ISSN 1095-1539.
- JORGE, P. A. R. et al. Effects of atorvastatin, fluvastatin, pravastatin, and simvastatin on endothelial function, lipid peroxidation, and aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 84, n. 4, p. 314-319, abr. 2005. ISSN 0066-782X.
- JORGE, P. A. R. et al. Effects of omega-3 fatty acids on endothelium-dependent relaxation in hypercholesterolemic rabbits. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 69, n. 1, p. 13-18, 1997. ISSN 0066-782X.
- JUDÉ, S. et al. Dietary long-chain omega-3 fatty acids of marine origin: a comparison of their protective effects on coronary heart disease and breast cancers. **Prog. Biophys. Mol. Biol.**, Oxford, v. 90, p. 299-325, 2006. ISSN 0079-6107.
- JUNG, U. J. et al. n₃ fatty acids and cardiovascular disease: mechanisms underlying beneficial effects. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v. 87, p. 2003S-2009S, 2008. ISSN 0002-9165.
- KAUR, H. D., BANSAL, M. Studies on HDL associated enzymes under experimental hypercholesterolemia: possible modulation on selenium supplementation. **Lipids Health Dis. (Online)**, London, v. 8, p. 55, 2009. ISSN 1476-511X.
- KHARBANDA, R; MACALLISTER, R. J. The atherosclerosis time-line and role of endothelium. **Curr. Med. Immunol., Endocr. Metab. Agents**, v. 5, p. 47-52, 2005. ISSN: 1568-0134.
- KOLANKIEWICZ, F.; GIOVELLI, F. M. H.; BELLINASO, M. L. Estudo do perfil lipídico e da prevalência de dislipidemias em adultos, **Rev. Bras. Anal. Clin.**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 4, p. 317-320, 2008. ISSN 0370-369X.

KRAMER, M. C. A. et al. Relationship of thrombus healing to underlying plaque morphology in sudden coronary death. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 54, n. 10, p. 2167-2173, 2009. ISSN 0735-1097.

KUNSTMANN, F. S.; GAINZA, D. K. Dislipidemia en la mujer: diagnóstico, clasificación y manejo. **Rev. Méd. Clin. Condes.**, Santiago, v. 20, n. 1, p. 47-52, 2009. ISSN 0716-8640.

LAI, S. et al. Serum IL-6 levels are associated with significant coronary stenosis in cardiovascularly asymptomatic inner-city black adults in the US. **Inflamm. Res.**, Basel, v. 58, n. 1, p. 15–21, 2009. ISSN 1023-3830.

LAMARÃO, R. C.; NAVARRO, F. Aspectos nutricionais promotores e protetores das doenças cardiovasculares. **R. B. O. N. E.**, São Paulo, v. 1, n. 4, p. 57-70, 2007. ISSN 1981-9919.

LANCELLOTTI, T. E. S; BOARELLI, P. V; MONCLUS, M. A. Hypercholesterolemia impaired sperm functionality in rabbits. **Plos ONE.**, San Francisco, v. 5, n. 10, p. e134567, Oct. 2010. ISSN 1932-6203.

LAVIE, C. J. et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular diseases. **J. Am. Coll. Cardiol.**, New York, v. 54, n. 7, p. 585-594, 2009. ISSN 0735-1097.

LEAF, A. et al. Prevention of sudden cardiac death by n-3 polyunsaturated fatty acids. **Pharmacol. Ther.**, Oxford, v. 98, p. 355-377, 2003. ISSN 0163-7258.

LEE, C-S. et al. Genistein supplementation inhibits atherosclerosis with stabilization of the lesions in hypercholesterolemic rabbits. **J. Korean. Med. Sci.**, Seoul, v. 19, p. 656-661, 2004. ISSN 1011-8934.

LI, Y. et al. Effect of aging on fatty streak formation in a diet-induced mouse model of atherosclerosis. **J. Vasc. Res.**, Basel, v. 45, n. 3, p. 205-210, 2008. ISSN 1018-1172.

LICHTENFELS, E. et al. Monckeberg's arteriosclerosis as a cause of lower limb critical ischemia: case report. **J. Vasc. Bras.**, São Paulo, v.6, n. 1, p. 97-100, 2007. ISSN 1677-5449.

LINDSEY, S.; PRONGZUK, A.; HAYES, K. C. Low density lipoprotein from humans supplemented with n-3 fatty acids depresses both LDL receptor activity and LDLr mRNA abundance in HepG2 cells. **J. Lipid Res.**, Bethesda, v. 33, n. 5, p. 647-658, 1992. ISSN 0022-2275.

LIRA, C. R. G. et al. Nutraceuticals: overview on safety, quality control and legislation. **R. B. F.**, Goiânia, v. 90, n.1, p. 45-49, 2009. ISSN 1808-0804.

LITTLE, P. J; BALLINGER, M. L.; OSMAN, N. Vascular wall proteoglycan synthesis and structure as a target for the prevention of atherosclerosis. **Vasc. Health Risk Manag.**, v. 3, n. 1, p. 117-124, 2007. ISSN 1176-6344.

MA, Z-L. et al. A rabbit model of atherosclerosis at carotid artery: MRI visualization and histopathological characterization. **Eur. Radiol.**, Berlin, v. 18, n. 10, p. 2174-2181, 2008. ISSN 1432-1084

MCLEOD, A. L. et al. Classification of arterial plaque by spectral analysis in remodeled human atherosclerotic coronary arteries. **Ultrasound Med. Biol.**, Oxford, v. 30, n. 2, p. 155-159, Feb. 2004. ISSN 0301-5629.

MANDEL, S. et al. Proceedings from the "Third International Conference on Mechanism of Action of Nutraceutical. **J. Nutr. Biochem.**, Stoneham, v. 16, p. 513-520, 2005. ISSN 0955-2863.

MANZUR, F.; SUÁREZ, A.; MONERIZ, C. Efectos y controversias de los ácidos grasos omega-3. **Rev. Colomb. Cardiol.**, Bogotá, v. 13, 3, p. 180-184, 2006. ISSN 0120-5633.

MARCHIOLI, R. et al. Antiarrhythmic mechanisms of n-3 PUFA and the results of the GISSI-Prevenzione trial. **J. Membr. Biol.**, New York, v. 206, p.117-128, 2005. ISSN 0022-2631.

MASSARO M. et al. Omega-3 fatty acids, inflammation and angiogenesis: basic mechanism behind cardioprotective effects of fish and oils. **Cell. Mol. Biol.**, Elmsford, v. 56, n. 1, p. 59-82, 2010. ISSN 0145-5680.

MASSBERG, S. et al. A critical role of platelet adhesion in the initiation of atherosclerotic lesion formation. **J. Exp. Med.**, New York, v. 196, n. 7, p. 887-896, 2002. ISSN 0022-1007.

MELO, D. S.; FRÉZ, E. C.; FRÉZ, M. C. R. Níveis de colesterol total versus fatores regionais de três cidades do Paraná. **RBAC**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 2, p. 133-135, 2008. ISSN 0370 -369 X.

MILIOTI, N. et al. Antigen-induced immunomodulation in the pathogenesis of atherosclerosis. **Clin. Dev. Immunol.**, Abingdon, v. 2008, p. e723539, Jun. 2008. ISSN 1740-2522.

MISSEL, E. et al. Influência do perfil lipídico em placas ateroscleróticas coronarianas moderadas: Análise com ultrassom intracoronariano. **Rev. Bras. Cardiol. Invas.**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 1, p. 88-93, 2009. ISSN 2179-8397.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições. **R.E.F.**, Goiânia, v.3, n. 2, p. 99-112, 2006. ISSN 1808-0804.

MOREIRA, A. et al. Ácidos gordos poliinsaturados n-3 e resposta imunológica. **Rev. Port. Imunoalergol.**, Porto, v. 8, n. 4, p. 237-250, 2001. ISSN 0871-9721.

NOBRE, M. R. C. et al. Prevalências de sobrepeso, obesidade e hábitos de vida associados ao risco cardiovascular em alunos do ensino fundamental. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v. 52, n. 2, p. 118-24, 2006. ISSN 0104-4230.

OLIVEIRA, T. T. et al. Different doses of the flavonoid rutin on the levels of serum lipids in male and female rabbits. **RBAC**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 4, p. 213-215, 2004. ISSN 0370 – 369 X.

ORR, A. W. et al. The subendothelial extracellular matrix modulates NF-kB activation by flow: a potential role in atherosclerosis. **J. Cell. Biol.**, New York, v. 169, n. 1, p. 191-292, 2005. ISSN 0021-9525.

PORTO, C. C.; RASSI, S.; LEITE, B. S. M. Afinal, o que é arteriosclerose? **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 37, n.1, p. 1-4, 1981. ISSN 0066-782X.

PRASAD, K. Reducion of serum cholesterol and hypercholesterolemic atherosclerosis in rabbits by secoisolariciresinol diglucoside Isolated from flaxseed. **Circulation.**, Dallas, v.99, p. 1355-1362, 1999. ISSN 0009-7322.

QUINTÃO, E. C. R. Da berinjela às estatinas: uma viagem entre ficção e realidade. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, São Paulo, v. 48, n. 2, p. 331-334, 2004. ISSN 0004-2730.

RAMALHO, H. M. M. et al. Cholesterol levels in country chicken eggs, in those of farm raised chickens, and in quail eggs stored under different conditions. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 3, p. 256-260, 2007. ISSN 0073-9855.

RAMAN, S. V. et al. In vivo atherosclerotic plaque characterization using magnetic susceptibility distinguishes symptom-producing plaques. **JACC Cardiovasc. Imaging**. (Print), New York, v. 1, n. 1, p. 49-57, 2009. ISSN 1936-878X.

RAMOS, A. et al. Estudo histopatológico de lesões ateroscleróticas em suínos de raça alentejana. **Rev. Ciênc. Agrária**, Lisboa, v. 30, n. 1, p. 323-330, 2007. ISSN 0871-018X.

RAMOS, S.; RAMOS, M. E. M. Dieta e risco cardiovascular: ômega-3, óleo de oliva, oleaginosas: o que é fato? **Rev. Soc. Cardiol. Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, a. 14, n. 6, p. 10-12, set./dez. 2005. ISSN 1809-6700.

RAUDALES, J. C. et al. Placa coronária aterosclerótica vulnerável: estado atual. **Rev. Bras. Cardiol. Invas.**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 3, p.314-323, 2006. ISSN 2179-8397.

RIBEIRO, K. C.; SHINTAKU, R. C. O. The influence of the lipids of the diet on aterosclerose. **Conscientiae Saúde**, São Paulo, v. 3, p. 73-83, 2004. ISSN 1677-1028.

RIQUE, A. B. R.; SOARES, E. A.; MEIRELLES, C. M. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. **Rev. Bras. Med. Esporte**, São Paulo, v. 8, n. 6, p. 244-254, 2002. ISSN 1517-8692.

ROBINSON J. G. et al. Atherosclerosis profile and incidence of cardiovascular events: a population-based survey. London, **BMC Cardiovasc. Disord.**, v. 9, p. 46, 2009. ISSN 1471-2261.

ROMALDINI, C. C et al. Risk factors for atherosclerosis in children and adolescents with family history or premature coronary artery disease. **J. Pediatrics**, Porto Alegre, v. 80, p. 2, 2004. ISSN 0021-7557.

ROMAN, R. M.; WENDLAND, A. E.; POLANCZYK, C. A. Myeloperoxidase and coronary arterial disease: from research to clinical practice. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 91, n. 1, p. 12-19, 2007. ISSN 0066-782X.

ROSINI, N.; MACHADO, M. J.; XAVIER, H. T. Estudo de prevalência e multiplicidade de fatores de risco cardiovascular em hipertensos do município de Brusque, SC. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 86, n. 3, 2006. ISSN 0066-782X.

SANTOS, J. A. B. **Estudo da aterosclerose induzida por diferentes tipos de dieta hiperlipídica em coelhos albinos (*Oryctolagus Cuniculus*)**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2008.

SANTOS, L. E. S.; BORTOLOZO, E. A. F. Q. Ingestão de ômega-3: consideração sobre potenciais benefícios no metabolismo lipídico. **Exata Terra**, Ponta Grossa, v. 14, n. 2, p. 161-170, 2008.

SANTOS, W. B. et al. Proteína-C-reativa e doença cardiovascular: as bases da evidência científica. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v.80, n. 4, p. 452-456, 2003. ISSN 0066-782X.

SANTOS FILHO, R. D; MARTINEZ, T. L. R. Fatores de risco para doença cardiovascular. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, São Paulo, v. 46, n. 3, p. 212-214, 2002. ISSN 0004-2730.

SARPIETRO, M. G. et al. Absorption of omega-3 fatty acids by biomembrane models studied by differential scanning calorimetry. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v. 503-504, p. 55-60, 2010. ISSN 0040-6031.

SCHACKY, C. von. A review of omega-3 ethyl esters for cardiovascular prevention and treatment of increased blood triglyceride levels. **Vasc. Health Risk Manag.**, v. 2, n. 3, p. 251–262, 2006. ISSN 1176-6344.

_____. ; HARRIS, W. S. Cardiovascular benefits of omega-3 fatty acids. **Cardiovasc. Res.**, London, v. 73, n. 2, p. 310-315, 2007. ISSN 0008-6363.

SCHERR, C.; RIBEIRO, J. P. Colesterol e gorduras em alimentos brasileiros: Implicações para a prevenção da aterosclerose. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, 92, n. 3, p. 190-195, 2009. ISSN 0066-782X.

SCHIANO, V. et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acid in peripheral arterial disease: Effect on lipid pattern severity, inflammation profile, and endothelial function. **Clin. Nutr.**, Edinburgh, v. 27, p. 241-247, 2008. ISSN 0261-5614.

SCHWALFENBERG, G. Omega-3 fatty acids their beneficial role in cardiovascular health. **Can. Fam. Physician.**, Willowdale, v. 52, p.734-774, 2006. ISSN 0008-350X.

SECHI, L. A. et al. Omega-3 Fatty acids: from biochemistry to their clinical use in the prevention of cardiovascular disease. **Recent Patents Cardiovasc. Drug Discov.**, v. 2, p. 13-21, 2007. ISSN 1574-8901.

SERRANO JUNIOR, C. V; SOUZA, J. A; PAIVA, M. S. M. O. Fatores desencadeantes da instabilização da placa aterosclerótica. **Rev. Soc. Cardiol.**, São Paulo, v. 11, n. 4, p. 724-732, 2001. ISSN 0103-8559.

SEYAMA, Y.; WACHI, H. Atherosclerosis and matrix dystrophy. **J. Atheroscler. Thromb.**, Tokyo, v. 11, n. 5, p. 236-245, 2004. ISSN 1340-3478.

SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, U. N. Omega-3 fatty acid concentrates: nutritional aspects and production technologies. **Trends Food Sci. Technol.**, Cambridge, v. 9, p. 230-240, 1998. ISSN: 0924-2244.

SHI, Q. et al. Arterial endothelial dysfunction in baboons fed a highcholesterol, high-fat diet-1,3. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v. 82, n. 4, p. 751-759, 2005. ISSN 0002-9165.

SIDDIQUI, R. A.; HARVEY, K. A.; ZALOGA, G. P. Modulation of enzymatic activities by n-3 polyunsaturated fatty acids to support cardiovascular health. **J. Nutr. Biochem.**, Stoneham, v. 19, p. 417-437, 2008. ISSN 0955-2863.

SIGNORI, L. U. et al. O papel da lipemia pós-prandial na gênese da aterosclerose: particularidades do diabetes mellitus. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, São Paulo, v.51, n. 2, 2007. ISSN 0004-2730.

SILVA, D. R. B.; MIRANDA JÚNIOR, P. F.; SOARES, E. A. A importância dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa na gestação. **Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.**, Recife, v. 7, n. 2, p. 123-133, 2007. ISSN 1519-3829.

SIMÃO, A. N. C. et al. Efeitos e mecanismos de ação dos ácidos graxos poli-insaturados N-3 na prevenção de doenças cardiovasculares. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, Umuarama, v. 11, n. 3, p. 225-233, 2007. ISSN 1415-076X.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v. 54, p.438-468, 1991. ISSN 0002-9165.

SINGH, V. et al. Models to study atherosclerosis: a mechanistic insight. **Curr. Vascul. Pharmacol.**, Dubai, v.7, n. 45, p. 109-167, 2009. ISSN: 1570-1611.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Diretrizes brasileiras de hipertensão arterial. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 88, abr. 2007. ISSN 0066-782X. Suplemento 1.

STAHLKE JÚNIOR, H. J. et al. Hyperhomocysteinemia causing atherogenesis in rabbits' aorta: na experimental model. **J. Vasc. Br.**, São Paulo, v. 3, n. 1, p. 20-30, 2004. ISSN 1677-5449.

STALENHOEF, A. F. H. et al. The effect of concentrated n-3 fatty acids versus gemfibrozil on plasma lipoproteins, low density lipoprotein heterogeneity and oxidizability in patients with hypertriglyceridemia. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v. 153, p. 129-138, 2000. ISSN 0021-9150.

STARY, H. C. et al. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions: a report from the committee on vascular lesions of the council on arteriosclerosis, American Heart Association. **Arterioscler. Thrombos. Vasc. Biol.**, Dallas, v. 12, p.120-134, 1995. ISSN 1079-5642.

STOLL, A. L. et al. Omega-3 fatty acids and bipolar disorder: a review. **Prostaglandins**, Los Altos, v. 80, n. 586, p. 329-337, 1999. ISSN 0090-6980.

SUÁREZ-MAHECHA, H. et al. Importance of polyunsaturated fatty acids present in pond-reared and wild fish for human nutrition. **Bol. Inst. Pesca**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 101-110, 2002. ISSN 1678-2305.

SUZUKI, Y.; YEUNG, A. C.; IKENO, F. The Importance of pre-clinical animal testing in interventional cardiology. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 91, n. 5, p. 231-332, 2008. ISSN 0066-782X.

SWIRSKI, F. K. et al. Monocyte accumulation in mouse atherogenesis is progressive and proportional to extent of disease. **PNAS**, Washington, v.103, n. 27, p. 10340-10345, 2006. ISSN 0027-8424.

TARDINI, D. M. S.; YOSHIDA, W. B. Brain injury due to ischemia and reperfusion in carotid endarterectomy surgery. **J. Vasc. Br.**, São Paulo, v. 2, n. 2, p. 119-28, 2003. ISSN 1677-5449.

TATARCZYK, T. et al. Analysis of long-chain ω -3 fatty acids content in fish-oil supplements (tradução). **Wien. klin. Wochenschr., Educ.**, Wien, v. 119, n.13-14, p. 417-422, 2007. ISSN 1863-3579.

THIES, F. et al. Association of n-3 polyunsaturated fatty acids with stability of atherosclerotic plaques: a randomized controlled trial. **Lancet**, London, v. 361, n. 8, p. 477-485, Feb. 2003. ISSN 0140-6736.

TORREJON, C.; JUNG, U. J; DECKELBAUM, R. J. n-3 Fatty acids and cardiovascular disease: Actions and molecular mechanisms. **Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.**, Edinburgh, v. 77, p. 319-326, 2007. ISSN 0952-3278.

TZIAKAS, D. N. et al. The role of red blood cells in the progression and instability of atherosclerotic plaque. **Int. J. Cardiol.**, Amsterdam, v. 142, p. 2-7, 2010. ISSN 0167-5273.

URQUIAGA, I. et al. Effect of mediterranean and occidental diets, and red wine, on plasma fatty acids in humans: an intervention study. **Biol. Res.**, Santiago, v. 37, n. 2, p. 253-261, 2004. ISSN 0716-9760.

VELZEN, J. E. van. et al. Plaque type and composition as evaluated noninvasively by MSCT angiography and invasively by VH IVUS in relation to the degree of stenosis. **Heart.**, London, v. 95; p. 1990-1996; 2009. ISSN 1355-6037.

VENÂNCIO, L. S.; BURINI, R. C.; YOSHIDA, W. B. Hiper-homocisteinemia na doença arterial periférica. **J. Vasc. Br.**, São Paulo, v.3, n. 1, p. 31-37, 2004. ISSN 1677-5449.

VILARIÑO, J. O; ESPER, R; BADIMÓN, J. Fisiopatología de los síndromes coronarios agudos: tres paradigmas para un nuevo dogma. **Rev. Esp. Cardiol. Supl. (Ed. impresa)**, Barcelona, v. 4, p. 13G-24G, 2004. ISSN 1131-3587.

VIRMANI, R. et al. Lessons from sudden coronary death a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. **Arterioscler. Thrombos. Vasc. Biol.**, Dallas, v. 20, p. 1262-1275, 2000. ISSN 1079-5642.

WADDINGTON, E. et al. Fatty acids oxidation products in human atherosclerotic plaque: an analysis of clinical and histopathological correlates. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v. 167, p. 111-120, 2003. ISSN 0021-9150.

WAQAR, A. B. et al. High-fat diet without excess calories induces metabolic disorders and enhances atherosclerosis in rabbits. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v. 213, p. 148-155, 2010. ISSN 0021-9150.

WANG, L. et al. Changing ratios of omega-6 to omega-3 fatty acids can differentially modulate polychlorinated biphenyl toxicity in endothelial cells. **Chem. Biol. Interact.**, Amsterdam, v. 172, p. 27-38, 2008. ISSN 0009-2797.

YANO, T. et al. Effects of ethyl all-cis-5,8,11,14,17-icosapentaenoate on low density lipoprotein in rabbits. **Yakugaku Zasshi.**, Tokyo, v. 115, n. 10, p. 843-851, 1995. ISSN 0031-6903.

YOKOYAMA, M. et al. Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomized openlabel, blinded endpoint analysis. **Lancet**, London, v. 369, p. 1090-1098, 2007. ISSN 0140-6736.

YONAMINE, G. H. et al. Desenvolvimento e análise química de preparações com reduzido teor de sódio, lipídios e colesterol. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.16, n. 2, p. 137-143, 2005. ISSN 0103-4235.

YUSOF, H. M.; MILES, E. A. M.; CALDER, P. Influence of very long-chain n-3 fatty acids on plasma markers of inflammation in middle-aged men. **Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids**, Edinburgh, v.78, p. 219-228, 2008. ISSN 0952-3278.

ZANDBERGEN, F.; PLUTZKY J. PPAR α in atherosclerosis and inflammation. **Biochim. Biophys. Acta**, Amsterdam, v. 1771, p. 972-982, 2007. ISSN 0006-3002.

ZHANG , J. P.; XU Y. Z, LI M. Effect of bushen kangshuai tablet on NF-kappaB signal pathway and inflammation factors in rabbits with experimental atherosclerosis. **Zhong xi yi jie he za zhi.**, Beijing, v. 29, n. 9, p.816-820, Sept. 2009. ISSN 0254-9034.

ZHAO, B. et al. Macrophage-specific transgenic expression of cholesteryl ester hydrolase significantly reduces atherosclerosis and lesion necrosis in Ldlr mice. **J. Clin. Invest.**, v. 117, n. 10, p. 2983–2992, Oct. 2007. ISSN 0021-9738.

ZOHDI, T. I.; HOLZAPFEL, G. A.; BERGER, S. A. A phenomenological model for atherosclerotic plaque growth and rupture. **J. Theor. Biol.**, London, v. 227, n. 3, p. 437-443, 2004. ISSN 0022-5193.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Formulário referente à Ficha de Coleta de Sangue

**EFEITOS DO ÔMEGA-3 NA PAREDE ARTERIAL DE COELHOS ALBINOS
(*Oryctolagus cuniculus*) SUBMETIDOS À ATEROSCLEROSE EXPERIMENTAL**

FICHA DE COLETA DO SANGUE

Coelho _____ **Grupo** _____

Peso _____

Data: __ / __ / _____

Relato sobre o Grupo / Aspecto Geral:

Procedimento de Coleta de Sangue para Análise Laboratorial:

RESULTADOS DOS EXAMES - VALOR DE REFERÊNCIA					
ANIMAL	COLESTEROL	HDL	LDL	VLDL	TRIGLICERÍDEOS
COELHO1					
COELHO2					
COELHO3					
COELHO4					
COELHO5					
COELHO6					
COELHO7					

Observações / Dificuldades:

Responsável pelo preenchimento:

APÊNDICE B – Ficha de Controle Individual para a dieta**EFEITOS DO ÔMEGA-3 NA PAREDE ARTERIAL DE COELHOS ALBINOS
(*Oryctolagus cuniculus*) SUBMETIDOS À ATEROSCLEROSE EXPERIMENTAL****FICHA DE CONTROLE INDIVIDUAL PARA DIETA HIPERLIPIDÊMICA**

Grupo _____ Animal _____

Coelho ____, Gaiola ____, Hora __:__

Programação da ração – 200g Água: *ad libitum*

Aspecto Geral:

1ª. Tomada:

Hora: Início __:__:__ Término __:__:__ Duração __:__:__
Troca de água sim () não () Limpeza da gaiola sim () não ()

Nível de aceitação da dieta:

Ótimo (), bom (), regular (), aceita c/ dificuldade (), aceita c/ muita
dificuldade () não aceitou () _____

Observações gerais:

2ª. Tomada:

Hora: Início __:__:__ Término __:__:__ Duração __:__:__

Nível de aceitação da dieta:

Ótimo (), bom (), regular (), aceita c/ dificuldade (), aceita c/ muita
dificuldade

() não aceitou () _____

Observações gerais:

Responsável pelo preenchimento:

APÊNDICE C- Ficha de necropsia

ESTUDO DOS EFEITOS DO ÔMEGA-3 EM COELHOS ALBINOS (*Oryctolagus cuniculus*) SUBMETIDOS À ATEROSCLEROSE EXPERIMENTAL

**FICHA DE CONTROLE INDIVIDUAL
NECROPSIA**

Grupo ____ Coelho Nº ____ Gaiola: ____ Data: ____ / ____ / ____ Hora: ____

Descrição do Procedimento: _____

Achados: _____

Conclusão: _____

Observações: _____

Responsável pelo preenchimento:

APÊNDICE D – RESULTADOS BIOQUÍMICOS DO SANGUE

COLESTEROL TOTAL

DIA: 0

G1	G2	G3
57	53	66
48	54	50
37	59	125
74	44	37
49	50	62
45	51	22
55	76	59

DIA: 33

G1	G2	G3
65	826	565
42	847	365
40	961	937
90	863	740
86	835	678
50	689	247
62	851	538

DIA: 66

G1	G2	G3
70	801	1002
36	1097	977
34	856	950
100	957	988
95	1013	1063
42	1101	678
57	939	944

DIA: 99

G1	G2	G3
62	814	1144
38	981	1067
35	1009	1077
89	961	1093
100	1024	1161
50	795	1081
55	849	1167

APÊNDICE E – RESULTADOS BIOQUÍMICOS DO SANGUE

LDL

DIA: 0

G1	G2	G3
15,00	5	20,2
1,40	10	13,4
6,40	13	54,4
24,00	10	9,4
14,00	5	28,0
0,80	21	1,6
8,80	13	24,2

DIA: 33

G1	G2	G3
3,8	775,80	472,40
4,2	678,60	290,60
16,0	883,60	847,00
13,4	774,20	667,80
14,2	774,80	599,20
7,6	751,40	175,20
4,4	770,20	492,20

DIA: 66

G1	G2	G3
13,8	746,00	736,0
6,0	360,80	835,0
68,0	740,80	786,0
63,8	896,80	1023,0
2,6	931,20	984,0
7,2	563,40	967,0
1,8	756,20	978,0

DIA: 99

G1	G2	G3
17,6	743	883
1,8	861	1000
18,0	909	984
9,6	873	1020
25,4	930	1064
2,2	479	1008
34,8	725	1098

APÊNDICE F – RESULTADOS BIOQUÍMICOS DO SANGUE

VLDL

DIA: 0

G1	G2	G3
12,0	15	13,6
17,4	13	19,6
14,4	16	42,6
12,0	10	13,6
7,0	11	10,0
15,8	9	12,4
10,2	15	9,8

DIA:33

G1	G2	G3
10,2	6,2	42,4
14,8	17,4	20,4
12,0	17,4	55,0
11,6	89,8	27,2
8,8	12,2	7,8
20,4	35,6	8,8
15,6	20,8	7,8

DIA: 66

G1	G2	G3
10,2	7,0	136,8
10,0	8,2	32,6
22,0	62,2	32,0
10,2	14,2	91,0
11,4	15,8	20,0
8,2	15,6	20,0
28,2	139,8	10,6

DIA: 99

G1	G2	G3
2,6	11	236
16,2	14	47
11,0	60	66
12,4	22	43
12,6	23	58
10,8	26	15
11,2	85	40

APÊNDICE G – RESULTADOS BIOQUÍMICOS DO SANGUE

HDL

DIA: 0

G1	G2	G3
37	33	32
35	54	17
29	29	28
38	33	14
28	34	24
30	18	8
36	48	25

DIA: 33

G1	G2	G3
28	44	50
36	51	54
28	60	35
42	79	45
34	48	71
35	52	63
32	60	38

DIA: 66

G1	G2	G3
28	35	39
36	59	40
28	53	34
42	73	39
34	66	44
35	58	55
32	43	46

DIA: 99

G1	G2	G3
28	60	25
36	41	20
28	40	27
42	66	30
34	76	39
35	42	58
32	39	29

APÊNDICE H – RESULTADOS BIOQUÍMICOS DO SANGUE

TRIGLICERÍDEO

DIA: 0

G1	G2	G3
60	73	68
87	56	98
72	79	213
60	49	68
35	54	50
79	70	62
51	73	49

DIA: 33

G1	G2	G3
51	31	213
74	165	102
60	87	275
58	49	136
44	61	39
102	50	44
78	104	39

DIA: 66

G1	G2	G3
51	35	684
50	152	163
110	311	159
51	71	455
57	79	100
41	535	100
141	699	53

DIA: 99

G1	G2	G3
13	53	1179
81	434	236
55	300	332
62	108	215
6	116	292
54	1456	76
56	423	198