



## Desenvolvimento de um Modelo Experimental de Dislipidemia de Baixo Custo

*Development of low Cost Dislipidemia Experimental Model*

Nilo César do Vale Baracho<sup>1</sup>,  
Lázaro Alessandro Soares Nunes<sup>2</sup>,  
Kalina Tondato de Paula e Silva<sup>3</sup>,  
Thiago Fernandes Marques<sup>3</sup>,  
André Luiz Rios dos Santos<sup>4</sup>,  
Andrio Rossi Marcelino<sup>4</sup>.

1. Farmacêutico-bioquímico. Doutor em Ciências da Saúde, pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Professor Titular de Farmacologia e Bioquímica, Faculdade de Medicina de Itajubá (FMI), Minas Gerais, Brasil.
2. Farmacêutico-bioquímico. Doutor em Biologia Funcional e Molecular pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Professor Titular do Curso de Ciências Biomédicas da Faculdade Metrocamp – Grupo IBMEC, Campinas, São Paulo, Brasil.
3. Graduados em Medicina, Faculdade de Medicina de Itajubá (FMI), Minas Gerais, Brasil.
4. Acadêmicos do 6º ano do curso de Medicina, Faculdade de Medicina de Itajubá (FMI), Minas Gerais, Brasil.

Recebido em março de 2014

Aceito em agosto de 2014

### Correspondência:

Nilo César do Vale Baracho.  
Faculdade de Medicina de Itajubá  
Av. Renó Júnior, 368. São Vicente  
Itajubá/MG. CEP: 37502-138.  
Tel: (35) 3629-8700.  
E-mail: nilocvbaracho@yahoo.com.br

### RESUMO

**Objetivo:** Desenvolver um novo método experimental de baixo custo para indução de dislipidemia em ratos. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados 20 ratos, da linhagem *Wistar*, divididos em dois grupos (n=10). O grupo 1 (controle) recebeu ração padrão para ratos da marca Purina® (com concentração padrão de colesterol) e o grupo 2 recebeu a mesma ração adicionada de 0,5% p/p de colesterol, obtido através da gema de ovo (grupo experimental), por 50 dias. **Resultados:** o grupo tratado com ração padrão da marca Purina® adicionada de 0,5% p/p de colesterol apresentou aumento significativo dos níveis séricos de colesterol total (118,6± 4,74 vs. 84,2±5,0 mg/dL, p<0,01), LDL-C (54,4± 7,9 vs. 23,6 ±7,0 mg/dL, p<0,01), VLDL-C (45,9±1,2 vs. 29,0± 5,8 mg/dL, p<0,01) e triglicérides (229,3±6,0 vs 145,0± 28,9 mg/dL, p<0,01) e redução significativa do HDL-C (18,3±4,8 vs. 31,7±5,6 mg/dL, p<0,01), quando comparado ao grupo controle. **Conclusão:** A utilização da ração padrão da marca Purina® adicionada de 0,5% p/p de colesterol mostrou-se eficaz em produzir alterações significativas nos níveis séricos de colesterol total, LDL-colesterol, VLDL-colesterol, HDL-colesterol e triglicérides, demonstrando que este modelo experimental de baixo custo constitui uma ferramenta útil para produzir dislipidemia em ratos.

**Palavras-Chave:** Dislipidemia, modelo experimental, ratos.

### ABSTRACT

**Objective:** Development of a new experimental low-cost method for induction of dislipidemia in rats. **Materials and Methods:** Twenty male *Wistar* rats were used, allocated in two groups (n = 10). Group 1 (control) received a standard diet for rats Purina® mark (with a standard concentration of cholesterol) and group 2 received the same chow and 0.5% p/p cholesterol obtained through yolk (Group experimental) for 50 days. **Results:** The group treated with the standard ration Purina® branded and 0.5% p/p cholesterol showed a significant increase in serum total cholesterol (118,6± 4,74 vs. 84,2±5,0 mg/dL, p<0,01), LDL-C (54,4± 7,9 vs. 23,6 ±7,0mg/dL, p<0,01), VLDL-C (45,9±1,2 vs. 29,0± 5,8 mg/dL, p<0,01) and triglycerides (229,3±6,0 vs 145,0± 28,9 mg/dL, p<0,01) and significant reduction of HDL-C (18,3±4,8 vs. 31,7±5,6 mg/dL, p<0,01) when compared to the control group. **Conclusion:** The use of standard ration Purina® branded and added to 0.5% p/p cholesterol was effective in producing significant changes in serum levels of total cholesterol, LDL-cholesterol, VLDL-cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides, demonstrating that this experimental model makes a useful low cost tool to produce dyslipidemia in rats.

**Keywords:** Dyslipidemia, experimental model, rats.

## INTRODUÇÃO

Nos últimos anos vem-se observando na população geral um aumento progressivo na prevalência de dislipidemias, que são caracterizadas por baixos níveis de HDL-colesterol, altos níveis de LDL-colesterol e níveis de colesterol total igual ou maior que 200 mg/dL.<sup>1,2</sup>

As dislipidemias são classificadas em primárias e secundárias. As primárias correspondem às alterações inatas, de caráter familiar ou não, dentro das quais se destacam a hipercolesterolemia comum, hiperlipidemia familiar combinada e hipercolesterolemia familiar. As secundárias se produzem como consequência de diversas enfermidades, como hipotireoidismo, diabetes mellitus, síndrome nefrótica e insuficiência renal.<sup>3</sup>

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica de origem multifatorial que ocorre em resposta à agressão endotelial, acometendo principalmente a camada íntima de artérias de médio e grande calibres.<sup>4</sup> A formação da placa aterosclerótica inicia-se com a agressão ao endotélio vascular devida a diversos fatores de risco, como dislipidemia, hipertensão arterial ou tabagismo. Como consequência, a disfunção endotelial aumenta a permeabilidade da íntima às lipoproteínas plasmáticas, favorecendo a retenção das mesmas no espaço subendotelial.<sup>5-7</sup>

O depósito de lipoproteínas na parede arterial, processo-chave no início da aterogênese, ocorre de maneira proporcional à concentração dessas lipoproteínas no plasma. Além do aumento da permeabilidade às lipoproteínas, outra manifestação da disfunção endotelial é o surgimento de moléculas de adesão leucocitária na superfície endotelial, processo estimulado pela presença de LDL

oxidada (LDL-ox).<sup>8</sup>

As moléculas de adesão são responsáveis pela atração de monócitos e linfócitos para a intimidade da parede arterial. Induzidos por proteínas quimiotáticas, os monócitos migram para o espaço subendotelial, onde se diferenciam em macrófagos, que por sua vez captam as LDL-ox, sem controle da quantidade recebida. Os macrófagos repletos de lipídios são chamados de células espumosas e são o principal componente das estrias gordurosas, lesões macroscópicas iniciais da aterosclerose.<sup>9</sup> Uma vez ativados, os macrófagos são, em grande parte, responsáveis pela progressão da placa aterosclerótica mediante a secreção de citocinas, que amplificam a inflamação, e de enzimas proteolíticas, capazes de degradar colágeno e outros componentes teciduais locais. Outras células inflamatórias também participam do processo aterosclerótico. Os linfócitos T, embora menos numerosos que os macrófagos no interior do ateroma, são de grande importância na aterogênese. Mediante interação com os macrófagos, por exemplo, as células T podem se diferenciar e produzir citocinas que modulam o processo inflamatório local.<sup>10-12</sup>

Alguns mediadores da inflamação estimulam a migração e proliferação das células musculares lisas da camada média arterial. Estas, ao migrarem para a íntima, passam a produzir não só citocinas e fatores de crescimento, mas também matriz extracelular, que formará parte da capa fibrosa da placa aterosclerótica. A placa aterosclerótica plenamente desenvolvida é constituída por elementos celulares, componentes da matriz extracelular e núcleo lipídico e necrótico, formado principalmente por debris de células mortas. As placas estáveis caracterizam-se por

predomínio de colágeno, organizado em capa fibrosa espessa, escassas células inflamatórias e núcleo lipídico e necrótico de proporções menores. As instáveis apresentam atividade inflamatória intensa, especialmente nas suas bordas laterais, com grande atividade proteolítica, núcleo lipídico e necrótico proeminente e capa fibrótica tênue. A ruptura desta capa expõe material lipídico altamente trombogênico, levando à formação de um trombo sobrejacente. Este processo, também conhecido por aterotrombose, é um dos principais determinantes das manifestações clínicas da aterosclerose.<sup>13-16</sup>

Um evento coronário agudo é a primeira manifestação da doença aterosclerótica em pelo menos metade dos indivíduos que apresentam essa complicação. Desta forma, a identificação dos indivíduos assintomáticos que estão mais predispostos é crucial para a prevenção efetiva com a correta definição das metas terapêuticas individuais. A estimativa do risco de doença aterosclerótica resulta da somatória do risco associado a cada um dos fatores de risco, mais a potenciação causada por sinergismos entre alguns desses fatores.<sup>17</sup> Diante da complexidade destas interações, a atribuição intuitiva do risco frequentemente resulta em subestimação ou superestimação dos casos de maior ou menor risco, respectivamente. Para contornar esta dificuldade, diversos algoritmos têm sido criados com base em análises de regressão de estudos populacionais, por meio dos quais a identificação do risco global é aprimorada substancialmente.<sup>18</sup>

A mortalidade por doença arterial crônica é a principal causa de morte no país e o colesterol elevado possui evidências para ser considerado o principal fator de risco modificável com base em estudos tipo caso-

controle, observacionais, de base genética ou de tratamento. Torna-se lógico, então, que reduções de colesterol, principalmente nos níveis de LDL-C, por meio de mudanças no estilo de vida e/ou fármacos, ao longo da vida, tenham grande benefício na redução de desfechos cardiovasculares.<sup>19,20</sup>

Políticas preventivas, tanto em nível populacional quanto individual, vêm sendo desenvolvidas, direcionadas aos fatores de risco clássicos, como idade, sexo, antecedentes pessoais e familiares não modificáveis e fatores modificáveis de maiores riscos, como: hipercolesterolemia, hipertensão e tabagismo.

Além dos estudos epidemiológicos e clínicos, o uso de modelos experimentais de animais tem contribuído para o entendimento da fisiopatologia da obesidade. Esses modelos concentram-se, sobretudo, em roedores, principalmente ratos e camundongos, oriundos de linhagens selecionadas geneticamente e tratados com dietas ricas em gordura, porém de alto custo, excesso de alimentação e lesões no Sistema Nervoso Central (SNC).<sup>21</sup>

Desta forma, o presente estudo teve como objetivo desenvolver, através de uma metodologia bem padronizada, um novo modelo experimental de baixo custo, para indução de dislipidemia em ratos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado na sala de Experimentação animal e nos Laboratórios de Bioquímica e de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Itajubá (FMIIt). É importante salientar que o presente estudo corresponde a uma subdivisão do trabalho intitulado “Influência do tratamento crônico por via oral com extrato seco de *Equisetum arvense* L. no

metabolismo lipídico de ratos” aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa 02/2007.

Este estudo obedeceu à Lei Federal 11.794 e às orientações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. (COBEA).

Foram utilizados 20 ratos machos, adultos jovens da linhagem *Wistar*, com peso variando entre 220 e 300 g e com idade entre 60 e 90 dias, oriundos do biotério da Faculdade de Medicina de Itajubá. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas, com no máximo 05 animais do mesmo grupo por gaiola, com água e ração “*ad libitum*” e submetidos a ciclo claro-escuro de 12 horas. Os animais foram divididos, aleatoriamente, em 02 grupos de 10 ratos (n=10).

Dos dois grupos experimentais delineados, apenas um grupo (controle – Grupo 1) recebeu ração padrão para ratos da marca Purina® (com concentração padrão de colesterol). O grupo teste (Grupo 2) recebeu diariamente, por um período de 50 dias, ração padrão para ratos da marca Purina® adicionada de 0,5% p/p de colesterol.

Considerando que a aquisição de colesterol puro é bastante dispendiosa, neste projeto utilizou-se a gema de ovo como fonte de colesterol, misturada à ração padrão, para se obter a referida suplementação. Portanto, para se obter a concentração de 0,5% p/p de colesterol foi considerado que uma gema de ovo contém: 225mg de colesterol, 1,8 g de gorduras saturadas, 2,16 g de ácidos graxos monoinsaturados e 0,72 g de ácidos polinsaturados.<sup>22</sup>

É importante salientar que neste projeto pretendeu-se produzir um aumento moderado de colesterol total e de colesterol LDL no grupo teste. Portanto, foi utilizada a suplementação de colesterol a 0,5% p/p.

Ao término do período experimental (50º dia), os animais foram anestesiados com Ketamina (50mg/Kg) e Xilazina (25mg/Kg) por via intramuscular (IM) e submetidos à punção intracardíaca. O sangue colhido foi centrifugado em centrífuga clínica (Excelsa, Fanen) a 2000 rpm durante 10 minutos e o soro obtido (+/- 1 ml/rato) guardado em tubos fechados em congelador (-4º C), para posteriores dosagens laboratoriais.<sup>23</sup>

O colesterol total da amostra e a fração HDLc foram dosados utilizando-se o Kit da marca Labtest (Liquiform-cat.76 e Liquiform-cat.13, respectivamente).<sup>24,25</sup> As concentrações de colesterol total e de HDLc foram determinadas por espectrofotometria, utilizando-se espectrofotômetro da marca Quimis, modelo Q-108 DRD. O kit Liquiform-cat.76 utiliza a metodologia enzimático-Trinder e o kit Liquiform-cat.13 utiliza a metodologia Labtest, através de reações de precipitação.

As lipoproteínas de alta densidade (HDL) foram separadas seletivamente através da precipitação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e muito baixa densidade (VLDL), com o reativo precipitante (Sulfato de Dextran e Cloreto de Magnésio). Após centrifugação, o sobrenadante (HDL) foi separado e dosado com reativo de colesterol, para a determinação do colesterol HDL.<sup>9</sup>

O colesterol contido na lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-colesterol) foi calculado através de uma estimativa, pelo cálculo proposto pela equação de Friedewald, onde:  $\text{Colesterol VLDL} = \text{Triglicérides}/5$ . Através desta equação, foi possível também calcular o valor de LDL-colesterol, onde:  $\text{Colesterol Total} = \text{Colesterol HDL} + \text{Colesterol LDL} + \text{Colesterol VLDL}$ .<sup>26</sup>

Os triglicérides foram dosados utilizando-se o Kit da marca Labtest (Liquiform-cat.87). A concentração dos triglicérides foi determinada por espectrofotometria, pelo espectrofotômetro da marca Quimis, modelo Q-108 DRD. O kit em questão utiliza a metodologia enzimático-Trinder.

A eutanásia dos animais foi realizada com punção aspirativa do ventrículo esquerdo, após anestesia com Ketamina (50mg/Kg) e Xilazina (25mg/Kg) por via intraperitoneal. É importante salientar que a punção aspirativa do ventrículo esquerdo com retirada de grande volume de sangue do animal, produz hipovolemia significativa e morte.

Para a realização dos cálculos estatísticos foi utilizado o Software STATISTICA instalado nos computadores do laboratório de informática da Faculdade de Medicina de Itajubá. Na análise estatística foi utilizado o teste t de Student, entre dois grupos independentes para a comparação dos grupos

em cada momento, com o cálculo das estatísticas t e p. Nos casos em que p foi menor que 0,05 a estatística foi considerada significativa.

## RESULTADOS

No presente estudo procurou-se verificar a produção de hipercolesterolemia em ratos a partir de uma dieta contendo ração padrão para ratos, adicionada de 0,5% p/p de colesterol via alimentar *ad libitum*, sendo a gema de ovo como fonte de colesterol.

O grupo tratado com ração padrão da marca Purina® adicionada de 0,5% p/p de colesterol apresentou um aumento significativo dos níveis séricos de colesterol total, quando comparado ao grupo controle. ( $118,591 \pm 4,744$  mg/dL vs  $84,184 \pm 5,011$  mg/dL,  $p < 0,001$ ) (Figura 1).

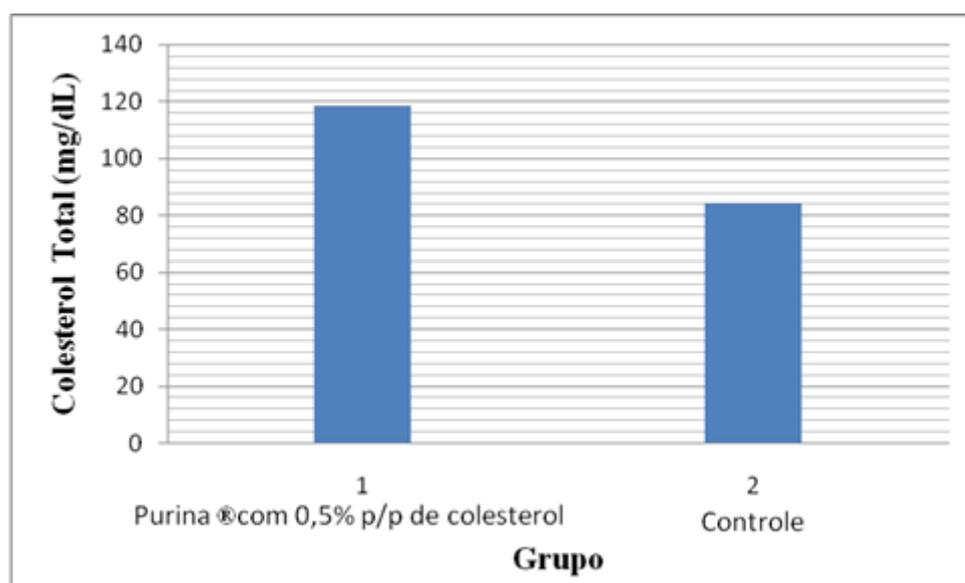


Figura 1 – Comparação dos níveis de colesterol total entre os grupos Controle e Ração Purina ® adicionada de 0,5% p/p de colesterol, mostrando um p com significância estatística ( $p < 0,00001$ ).

A dosagem dos níveis séricos de LDL-  
colesterol mostrou diferença estatística  
significativa entre os grupos Controle e Purina

® adicionado 0,5% p/p de colesterol, com  $p$   
<0,00001 ( $54,426 \pm 7,952$  mg/dL vs  $23,622 \pm$   
 $7,021$  mg/dL) (Figura 2).

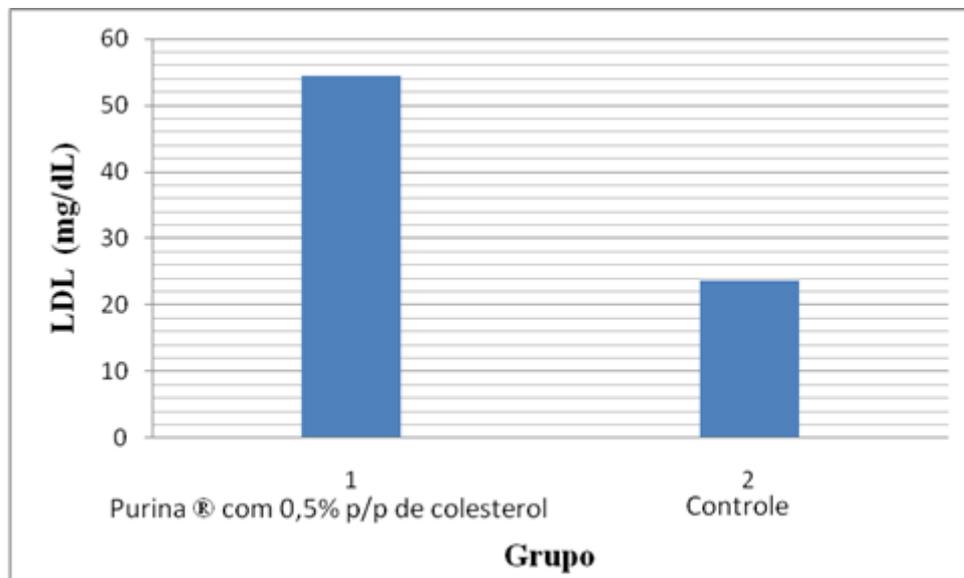


Figura 2 – Comparação dos níveis de colesterol LDL entre os grupos Controle e Ração Purina® adicionada de 0,5% p/p de colesterol, mostrando diferença significativa nos níveis séricos de LDL-C, com um  $p < 0,00001$ .

Em relação aos níveis séricos de  
VLDL-colesterol observou-se um aumento  
significativo da média do grupo Purina®  
adicionado 0,5% p/p de colesterol, comparado

ao grupo Controle, com  $p < 0,000001$  ( $45,867$   
mg/dL  $\pm 1,20$  vs.  $29,006$  mg/dL  $\pm 5,796$ )  
(Figura 3).

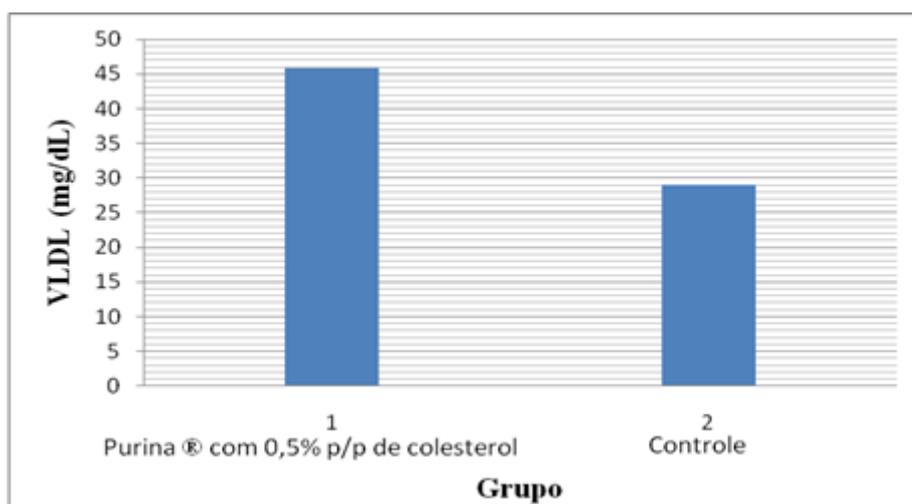


Figura 3 – Comparação dos níveis de colesterol VLDL entre os grupos Controle e Ração Purina® adicionada de 0,5% p/p de colesterol.

Por outro lado, houve redução  
significativa dos níveis séricos de HDL-  
colesterol do grupo Purina® adicionado 0,5%

p/p de colesterol em relação ao grupo Controle  
( $18,270$  mg/dL  $\pm 4,781$  vs  $31,656$  mg/dL  $\pm$   
 $5,557$ , com  $p < 0,000018$ )(Figura 4).

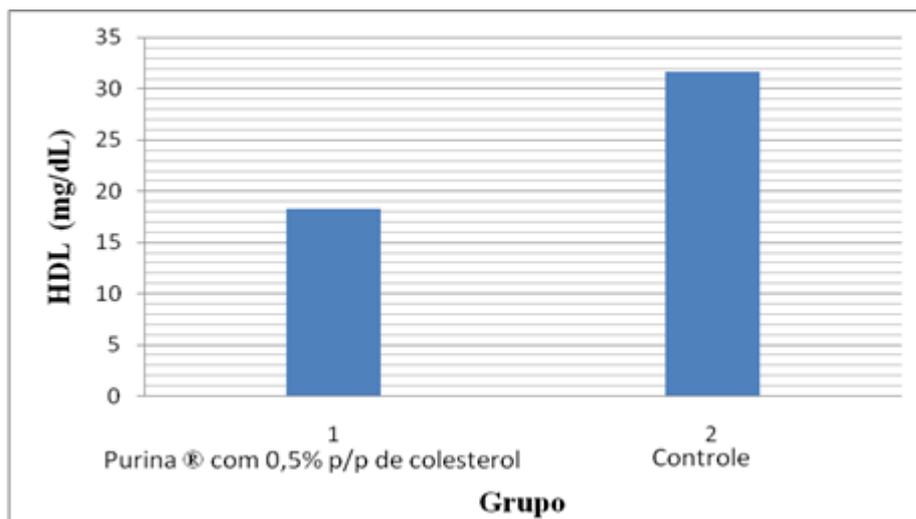


Figura 4 – Comparação das médias dos níveis séricos de HDL-C do grupo Purina® adicionado de 0,5% p/p de colesterol e grupo Controle ( $p < 0,000018$ ).

Em relação aos níveis séricos de Triglicérides, pode-se observar um aumento significativo da média do grupo Purina® adicionado 0,5% p/p de colesterol, comparada

ao grupo Controle ( $229,335 \text{ mg/dL} \pm 6,026$  vs  $145,032 \text{ mg/dL} \pm 28,981$   $p < 0,000001$ ) (Figura 5).

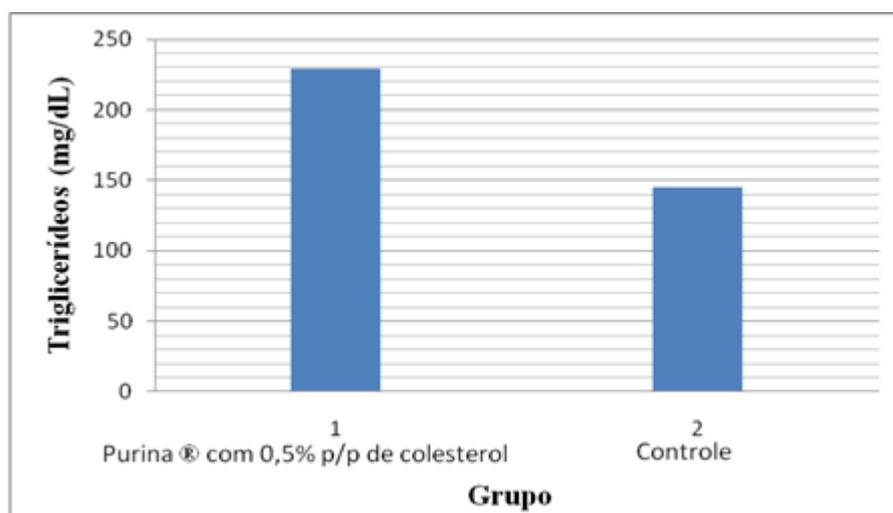


Figura 5 – Comparação dos níveis séricos de triglicérides do grupo Purina® adicionado 0,5% p/p de colesterol em relação ao grupo Controle. ( $p < 0,000001$ ).

Na figura 6 é possível observar a análise global das médias das concentrações plasmáticas de colesterol total, LDL-c, VLDL-c,

HDL-c e triglicérides dos grupos Controle e Purina® adicionado 0,5% p/p de colesterol, obtidas no presente estudo.

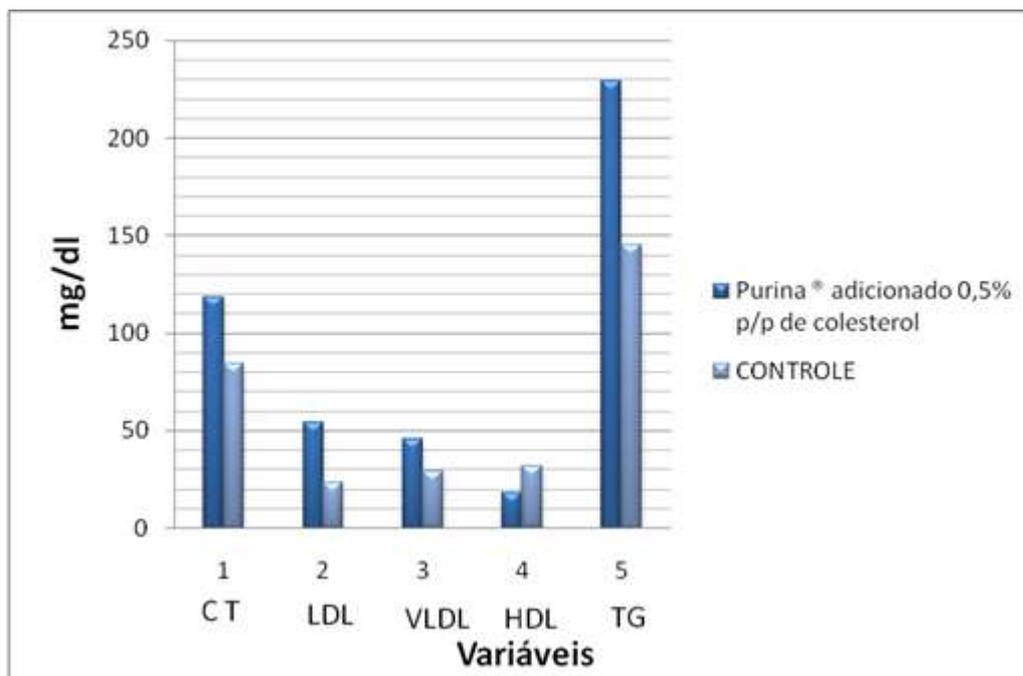


Figura 6 – Comparação das médias de colesterol total, frações e triglicérides dos grupos Controle e Purina® adicionado 0,5% p/p de colesterol. CT= Colesterol total; LDL= Fração LDL colesterol; VLDL= Fração VLDL colesterol; HDL= Fração HDL colesterol; TG= Triglicérides.

## DISCUSSÃO

Modelos baseados na hipercolesterolemia induzida por via alimentar são importantes e mais práticos para o estudo da aterosclerose, sendo responsável por grande parte dos conhecimentos atuais sobre sua etiologia, fisiopatologia e tratamento. Entre 1910 e 1911, Stuckey, observou que a gema de ovo era aterogênica e, no ano seguinte, concluiu que havia um componente não proteico nela, que funcionava como agente aterogênico. Em 1913, Wesselkin testou se o agente aterogênico do experimento de Stuckey era o colesterol ou a lecitina e obteve aterosclerose apenas nos coelhos alimentados com gema de ovo, concluindo que o colesterol era o fator aterogênico presente na gema.<sup>27</sup>

Diversos estudos têm discutido os efeitos do consumo de dietas hiperlipídicas sobre a adiposidade intra-abdominal e a sua relação com o desenvolvimento de obesidade e doenças crônicas não transmissíveis. Os efeitos

dessas dietas sobre o peso corporal e o consumo alimentar apresentam resultados controversos na literatura, principalmente devido ao tempo de administração.<sup>27</sup>

Diante da importância da dislipidemia para o ser humano, houve uma busca incessante de modelos experimentais para melhor caracterizá-la. Após a descoberta de que uma dieta rica em colesterol era aterogênica, as pesquisas dirigiram-se cada vez mais para modelos baseados em suplementação com colesterol purificado e perdeu-se, em muito, o interesse em pesquisar dietas compostas por outros elementos indutores de hipercolesterolemia experimental, como proteínas animal e vegetal.<sup>28</sup> Entretanto, o colesterol purificado disponível no mercado tem alto custo, o que limita seu amplo emprego no estudo da hipercolesterolemia experimental, segundo dados na literatura.

Estudos pioneiros que utilizaram dietas com gema de ovo como fonte de colesterol

alimentar a 0,15% adicionada à ração padrão de coelhos mostraram um aumento nas concentrações plasmáticas de colesterol total e frações. Até o presente momento, não foram encontrados na literatura outros estudos que utilizaram a suplementação com gema de ovo para indução de hipercolesterolemia em ratos.<sup>29</sup>

Este estudo foi proposto no intuito de viabilizar a indução de hipercolesterolemia em ratos, através de um modelo experimental de baixo custo, que assim como o estudo realizado em coelhos, apresentou significativo aumento nos níveis plasmáticos de colesterol total, LDL-colesterol, VLDL-colesterol.<sup>30</sup> Por outro lado, no presente experimento encontrou-se uma redução dos níveis séricos de HDL-colesterol e aumento de triglicérides. Portanto, a dieta testada mostrou-se efetiva nos animais de experimentação.

Dessa forma, abrem-se perspectivas para testar se uma oferta maior diária de gema

de ovo desenvolveria lesões arteriais e hipercolesterolemia mais expressivas, dados o baixo custo e a acessibilidade a essa fonte alimentar de colesterol. Este modelo dietético pode, portanto, ser adequado para uma investigação sistemática sobre o papel de gordura na dieta na regulação do peso corporal e outras questões diretamente relacionadas à obesidade.

## CONCLUSÃO

A utilização da ração padrão da marca Purina<sup>®</sup> adicionada de 0,5% p/p de colesterol mostrou-se eficaz em produzir alterações significativas nos níveis séricos de colesterol total, LDL-colesterol, VLDL-colesterol, HDL-colesterol e triglicérides, demonstrando que este modelo experimental de baixo custo constitui uma ferramenta útil para produzir dislipidemia em ratos.

## REFERÊNCIAS

1. Arcanjo CL, Piccirillo LJ, Machado IV, Andrade Junior CRM, Clemente EL, Gomes MB. Avaliação de dislipidemia e de índices antropométricos em pacientes com diabetes mellitus tipo I. *Rev Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2005;49(6):951-8.
2. Hafidh AS, Lavre CJ, Burns BP, Kahn SS, Alpert MA. Dyslipidemia in the metabolic syndrome: clinical implications and management. *Menerva Cardioangi.* 2006;54(2):215-27.
3. Upadhyay A, Earley A, Lamont JL, Haynes S, Wanner C, Balk EM. Lipid-lowering therapy in persons with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2012;157(4):251-62.
4. Santos RD, Gagliardi AC, Xavier HT, Casella Filho A, Araujo DB, Cesena FY, *et al.* Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar (HF). *Arq Bras Cardiol.* 2012;99:1-28.
5. Ni YG, Di Marco S, Condra JH, Peterson LB, Wang W, Wang F, *et al.* A PCSK9-binding antibody that structurally mimics the EGF(A) domain of LDL-receptor reduces LDL cholesterol in vivo. *J Lipid Res.* 2011;52(1):78-86.
6. Kotwal S, Jun M, Sullivan D, Perkovic V, Neal B. Omega 3 Fatty acids and cardiovascular outcomes: systematic review and meta-analysis. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes.* 2012;5(6):808.
7. Boden WE, Probstfield JL, Anderson T, Chaitman BR, Desvignes-Nickens P, Koprowicz K, *et al.* AIM-HIGH Investigators. Niacin in patients with low HDL cholesterol levels receiving intensive statin therapy. *N Engl J Med.* 2011;365(24):2255-67. Erratum in *N Engl J Med.* 2012;367(2):189.
8. Long SB, Blaha MJ, Blumenthal RS, Michos ED. Clinical utility of rosuvastatin and other statins for cardiovascular risk reduction among the elderly. *Clin Interv Aging.* 2011;6:27-35.
9. Baigent C, Landray MJ, Reith C, Emberson J, Wheeler DC, Tomson C, *et al.* SHARP

- Investigators. The effects of lowering LDL cholesterol with simvastatin plus ezetimibe in patients with chronic kidney disease (Study of Heart and Renal Protection): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2011;377(9784):2181-92.
10. Mancilha SJ. Efeito da suplementação com Quitosana nos parâmetros bioquímicos de ratos Wister [Trabalho de Conclusão de Curso]. Itajubá: Faculdade de Medicina de Itajubá; 2005.
  11. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor, *Ann Clin Biochem*. 1969;6:24-7.
  12. Raal FJ, Santos RD, Blom DJ, Marais AD, Charng MJ, Cromwell WC, *et al*. Mipomersen, an apolipoprotein B synthesis inhibitor, for lowering of LDL cholesterol concentrations in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2010;375(9719):998-1006
  13. Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. PCSK9: a convertase that coordinates LDL catabolism. *J Lipid Res*. 2009;50(Suppl):S172-7
  14. Steinberg D, Witztum JL. Inhibition of PCSK9: a powerful weapon for achieving ideal LDL cholesterol levels. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(24):9546-7.
  15. Chowdhury R, Stevens S, Gorman D, Pan A, Warnakula S, Chowdhury S, *et al*. Association between fish consumption, long chain omega 3 fatty acids, and risk of cerebrovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2012;345:6698.
  16. Catapano AL, Reiner Z, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, *et al*. European Society of Cardiology (ESC); European Atherosclerosis Society (EAS). ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Atherosclerosis*. 2011;217(1):3-46.
  17. Den Ruijter HM, Peters SA, Anderson TJ, Britton AR, Dekker JM, Eijkemans MJ, *et al*. Common carotid intima-media thickness measurements in cardiovascular risk prediction: a meta-analysis. *JAMA*. 2012;308(8):796-803.
  18. Yeboah J, McClelland LR, Polonski TS, Burke GL, Sibley CT, O'Leary D, *et al*. Comparison of novel risk markers for improvement in cardiovascular risk assessment in intermediate-risk individuals. *JAMA*. 2012;308(8):788-95.
  19. Mosca L, Benjamin EJ, Berra K, Bezanson JL, Dolor RJ, Lloyd-Jones DM, *et al*. Effectiveness-based guidelines for the prevention of cardiovascular disease in women - 2011 update: a guideline from the American Heart Association. *Circulation*. 2011;123(11):1243-62.
  20. Baigent C, Blackwell L, Emberson J, Holland LE, Reith C, Bhalra N, *et al*. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*. 2010;376(9753):1670-81.
  21. Bray GA, Paeratakul S, Popkin BM. Dietary fat and obesity: a review of animal, clinical and epidemiological studies. *Physiol Behav*. 2004;83(4):549-55.
  22. Ference BA, Yoo W, Alesh I, Mahajan N, Mirowska KK, Mewada A, *et al*. Effect of long-term exposure to lower low-density lipoprotein cholesterol beginning early in life on the risk of coronary heart disease: a Mendelian randomization analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2012; 25;60(25):2631-9.
  23. Robinson JG, Wang S, Jacobson TA. Meta-analysis of comparison of effectiveness of lowering apolipoprotein B versus low-density lipoprotein cholesterol and nonhigh-density lipoprotein cholesterol for cardiovascular risk reduction in randomized trials. *Am J Cardiol*. 2012;110(10):1468-76.
  24. Helgadottir A, Gretarsdottir S, Thorleifsson G, Holm H, Patel RS, Gudnason T, *et al*. Apolipoprotein(a) genetic sequence variants associated with systemic atherosclerosis and coronary atherosclerotic burden but not with venous thromboembolism. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60(8):722-9.
  25. Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, *et al*. European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation, ESC Committee for Practice Guidelines (CPG) 2008-2010 and 2010-2012 Committees. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J*. 2011;32(14):1769-818.
  26. Park H, Shima T, Yamaguchi K, Mitsuyoshi H, Minami M, Yasui K, *et al*. Efficacy of long-term ezetimibe therapy in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol*. 2011;46(1):101-7.
  27. HPS2-THRIVE Collaborative Group. HPS2-THRIVE randomized placebo-

- controlled trial in 25 673 high-risk patients of ER niacin/laropiprant: trial design, pre-specified muscle and liver outcomes, and reasons for stopping study treatment. *Eur Heart J*. 2013;34(17):1279-91.
28. Manzoni MS, Rossi EA, Carlos IZ, Vendramini RC, Duarte AC, Dâmaso AR. Fermented soy product supplemented with isoflavones affected fat depots in juvenile rats. *Nutrition*. 2005;21(10):1018-25.
29. Lovoie JM, Yasari S, Abdennadher M, Paquette A. Effects of alternations (10 days) of high-fat diet with normal diet on liver lipid infiltration, fat gain, and plasma metabolic profile in rat. *Physiol Behav*. 2005;86(4):442-8.
30. Duarte ACGO, Fonseca DF, Manzoni MSJ, Soave CF, Sene-Fiores M, Dâmaso AR, *et al*. High fat diet and secretory capacity of insulin in rat. *Rev Nutr*. 2006;19(3):341-8.

**Correspondência:** Nilo César do Vale Baracho. Faculdade de Medicina de Itajubá Av. Renó Júnior, 368. São Vicente Itajubá/MG. CEP: 37502-138. Tel: (35) 3629-8700. E- mail: [nilocvbaracho@yahoo.com.br](mailto:nilocvbaracho@yahoo.com.br)