



Efeito da Lecitina de Soja sobre os Lipídeos e Proteína C reativa e na prevenção da Hipertrofia Ventricular Esquerda de Camundongos Hiperlipidêmicos

Calderon, H.L.¹; Carvalho, A.J.P.¹; Oliveira, I.C.R.²; Soares, E.A.³; Loyola, Y.C.S.³; Santos, L.³; Messoria, L.B.³; Pereira, J.E.G.⁴; Incerpi, E.K.⁵; Lobão, P.H.O.A.⁶; Garcia, J.A.D.^{7*}

¹Acadêmico do curso de Medicina da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS, Alfenas – MG – Bolsista CNPq

²Acadêmico do curso de Enfermagem da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS, Alfenas – MG.

³Professores de Anatomia, Farmacologia e Fisiologia Humana da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS, Alfenas – MG.

⁴Acadêmico do curso de Medicina Veterinária da Universidade José do Rosário Vellano - UNIFENAS, Alfenas – MG .

⁵Médica Veterinária responsável pelo Biotério da Universidade Federal de Alfenas- UNIFAL, Alfenas. MG

⁶Bolsista PROBIC Junior - Universidade José do Rosário Vellano - UNIFENAS, Alfenas – MG .

⁷Doutor em Fisiologia, Orientador do Núcleo de Pesquisa em Farmacologia e Cirurgia experimental e Professor da disciplina de Fisiologia Humana nos cursos de Medicina e Odontologia; e de Fisiologia Geral no curso de Medicina Veterinária - da Universidade José do Rosário Vellano - UNIFENAS, Alfenas – MG.

Recebido 14/03/2011 / Aceito 17/08/2011

RESUMO

A regulação do metabolismo lipídico com drogas ou alimentos naturais é um alvo importante para diminuir o risco de doenças cardiovasculares. O objetivo deste estudo foi verificar o efeito da lecitina de soja na dislipidemia e na hipertrofia ventricular de camundongos hipercolesterolêmicos. Utilizaram-se quatro grupos de camundongos LDLr^{-/-} com 3 meses de idade que receberam a seguintes dietas: Grupo S- ração padrão; Grupo S+Lec- ração padrão e lecitina de soja; Grupo HL- ração hiperlipídica; e Grupo HL+Lec- ração hiperlipídica e lecitina de soja. Após 15 dias, o sangue foi coletado para análise sérica dos lipídeos e da proteína C reativa. O ventrículo esquerdo foi separado, a proporção peso ventricular (mg) pelo peso do animal (g) foi calculada e, em seguida, processado histologicamente. Cortes histológicos foram corados com hematoxilina/eosina e picrosírius red para avaliar alterações morfológicas e morfométricas ventriculares. A lecitina de soja apresentou efeito antidislipidêmico e aumentou os níveis séricos de HDL nos camundongos do grupo S+Lec. Entretanto, nos camundongos do grupo HL+lec, a lecitina de soja não preveniu a dislipidemia, apenas aumentou o nível sérico do HDL. Este efeito nestes animais influenciou no processo inflamatório cardiovascular, reduzindo o nível sérico de proteína

C reativa; e prevenindo a hipertrofia ventricular esquerda. A utilização da lecitina de soja representa um tratamento e/ou uma prevenção alternativa de baixo custo para as dislipidemias não associadas com dieta hiperlipídica. Contudo, a lecitina de soja aumenta os níveis séricos do HDL prevenindo o desenvolvimento da HVE mesmo em dislipidemias associadas com dieta hiperlipídica.

Palavras-chaves: Lecitina de soja. Dislipidemias. Hipertrofia ventricular esquerda e camundongo.

INTRODUÇÃO

A regulação do metabolismo lipídico através de drogas ou de alimentos naturais é um alvo importante à intervenção terapêutica no intuito de diminuir o risco de doenças cardiovasculares (Schaefer, 2002), pois as dislipidemias são fatores relevantes de riscos no contexto das doenças cardiovasculares, e as intervenções apropriadas podem ter impacto no tratamento clínico (Kingsbury & Bondy, 2003). As dislipidemias primárias, ou sem causa aparente, podem ser classificadas genotipicamente ou fenotipicamente. Na classificação genotípica, as dislipidemias se dividem em monogênicas- causadas por mutações em um só gene, e poligênicas - causadas por associações de múltiplas mutações que, isoladamente, não seriam de grande repercussão. A classificação fenotípica ou bioquímica compreende quatro tipos bem definidos: hipercolesterolemia isolada, hipertrigliceridemia isolada, hiperlipidemia mista e nível plasmático de HDLc baixo.

O risco do desenvolvimento de doenças cardiovasculares está relacionado diretamente aos níveis plasmáticos de LDL colesterol (LDLc) e inversamente à concentração de HDL colesterol (HDLc) (Castelli et

al.,1977). A dislipidemia está associada ao aumento de radicais livres em modelos humanos e animais (Davi et al., 1997), e sua relação com a doença coronária aterosclerótica e hipertrofia ventricular esquerda (HVE) foi demonstrada em diferentes estudos (Kannel et al., 1979; Garcia et al., 2008). Por outro lado, a redução da morbimortalidade por doenças cardiovasculares, a interrupção, a regressão e a prevenção da doença aterosclerótica e da HVE através de drogas redutoras do colesterol plasmático, também tem sido referida por inúmeros estudos (Garcia et al., 2008; Buchwald et al., 1990; Ornish et al., 1990; Brown et al., 1990).

Os inibidores da hidroximetilglutaril-coenzima-A redutase (HMG-CoA redutase), também conhecidos como estatinas, são o grupo de fármacos mais potentes e eficazes para reduzir o colesterol total (CT) e o LDLc (Kastelein et al., 2008). Desde que foram aprovados para uso no tratamento da hipercolesterolemia pelo FDA em 1987, diversos estudos clínicos demonstraram que esses medicamentos são capazes de reduzir eventos cardiovasculares, quer na prevenção primária e/ou prevenção secundária da doença arterial coronariana (Downs et al., 1998; Shepherd et al., 1995). Entretanto, devido ao elevado custo dos medicamentos redutores do colesterol plasmático e a perspectiva de uso prolongado, os pacientes têm recorrido a tratamentos alternativos para o controle das dislipidemias. Estes tratamentos têm sido utilizados de forma empírica, carecendo de metodologia de estudo que permita conclusões mais confiáveis.

Nas últimas décadas, associou-se o consumo de soja à redução de doenças cardiovasculares. Em adição, evidências epidemiológicas sugeriram que populações que consomem dietas ricas em soja e derivados apresentaram uma menor taxa de mortalidade por doenças coronarianas (Lichtenstein, 1998).

De modo geral a ampla utilização da soja pela população e a importância do melhor conhecimento de seu efeito sobre a dislipidemia e a HVE, representaram o fundamento desta proposta de estudo, que visou verificar o efeito da lecitina de soja na dislipidemia e na hipertrofia ventricular esquerda de camundongos hipercolesterolêmicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Protocolo animal

Os experimentos foram realizados em camundongos homocigóticos para a ausência do gene do receptor de LDL (LDLr^{-/-}) gerados no *background* C57BL6, machos, com 3 meses de idade e pesando 22 ± 3 gramas. Os animais foram criados no biotério da Universidade José do Rosário Vellano (Alfenas, MG, Brasil) com controle de temperatura e ciclo claro/escuro (12 horas), divididos em quatro grupos experimentais: Grupo S (n=12), camundongos LDLr^{-/-} que receberam ração padrão para roedores (Nuvital[®]) por 15 dias; Grupo S+lec (n=12), camundongos LDLr^{-/-} que receberam ração padrão para roedores (Nuvital[®]) e tratamento com lecitina de soja durante 15 dias na dose de 2g/kg de peso corporal, administrada por gavagem, uma vez ao dia; Grupo HL (n=12), camundongos LDLr^{-/-} que

receberam ração hiperlipídica contendo 20% de gordura total, 1,25% de colesterol e 0,5 % de ácido cólico por 15 dias; e Grupo HL+Lec (n=12), camundongos LDLr^{-/-} que receberam ração hiperlipídica contendo 20% de gordura total, 1,25% de colesterol e 0,5 % de ácido cólico e tratamento com lecitina de soja durante 15 dias na dose de 2g/kg de peso corporal, administrada por gavagem, uma vez ao dia. A lecitina de soja foi manipulada em óleo mineral numa concentração de 50mg/0,2mL. Todos os animais receberam as respectivas dietas e água *ad libitum*.

Após 15 dias de experimento, os camundongos permaneceram por jejum de 12 horas, foram pesados (g) e em seguida anestesiados por via intraperitoneal (IP) utilizando-se xilazina (Rompun[®]) da Bayer e Ketamina (Dopalen[®]) da Vetbrands, nas concentrações de 6 e 40 mg/Kg, respectivamente. O sangue foi coletado por punção do plexo venoso retro-orbital para análise sérica de triglicérides, colesterol total, suas frações (LDL, HDL, VLDL) e da proteína C reativa.

Análises séricas dos lipídeos

O soro foi obtido por centrifugação do sangue (3000 rpm por 10 min) de 6 animais de cada grupo. Os lipídeos (triglicérides, colesterol total e HDLc) foram mensurados por métodos enzimáticos colorimétricos utilizando protocolos descritos nos kits comerciais (*In Vitro*[®]) por automação (Aparelho Humastar 300[®]). O VLDLc foi calculado pela divisão dos níveis séricos de triglicérides por 5. O LDLc foi determinado pela fórmula: LDLc = Colesterol total-(HDLc+VLDLc) (Friedewald et al., 1972), e todos os resultados foram expressos em mg/dL.

Análise sérica da proteína C reativa

O soro sanguíneo foi obtido do sangue de 6 animais de cada grupo. A determinação quantitativa da concentração sérica da PCR foi através de turbidimetria e fotometria (Aparelho Humastar 300[®]) expressando os resultados em mg/dL (Lima et al., 2000).

Análises morfométricas e histológicas

Após toracotomia, o coração foi removido e o ventrículo esquerdo foi isolado e pesado a fresco (mg). Calculou-se a proporção do peso ventricular esquerdo (mg) pelo peso corporal (g) para determinar a existência de hipertrofia ventricular esquerda. O ventrículo esquerdo foi fixado por 24 horas em formalina a 10%. Em seguida, foi incluído em parafina para cortes histológicos de quatro micrômetros de espessura, segundo Junqueira et al., (1979). Cortes histológicos foram corados com picrosírius red e com hematoxilina/ eosina para análise quantitativa do colágeno e para análise morfométrica dos cardiomiócitos, respectivamente. Foram obtidas quatro fotomicrografias (200x), a partir de um mesmo ponto pré-fixado dos cortes transversais do ventrículo de cada camundongo, utilizando-se a câmara digital acoplada ao programa Leica IM50 (versão 1.20). Foram medidos os diâmetros de 8 a 12 cardiomiócitos de cada corte histológicos, totalizando 12 cortes histológicos em cada animal. Os cortes corados

com picrossírius red foram analisados com luz polarizada. Cada fotomicrografia foi analisada pelo software LGMC-image versão 1.0, por meio do qual foram adquiridas as porcentagens fracionais de colágeno (Garcia et al., 2008) referentes às áreas marcadas em vermelho pelo picrossírius red. Todas as análises histológicas foram executadas por um único examinador, utilizando o método duplo cego.

O uso dos animais e o protocolo experimental foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS), sob o parecer número 05A/2008.

Métodos estatísticos

Os dados foram expressos como média \pm Erro Padrão da Média (EPM). A análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey, foi utilizada para comparar as médias entre diferentes grupos. As diferenças foram consideradas significativas quando o valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Na análise sérica dos lipídeos observou-se a diminuição do colesterol total (CT) no grupo S+Lec em relação ao grupo S (Tabela 1). Entretanto, os grupos HL e HL+Lec apresentaram hiperlipidemia mista severa (Tabela 1). A lecitina de soja preveniu o aumento do nível sérico de LDLc, VLDLc e de triglicérides (TG) no grupo S+Lec, comparado ao grupo S; porém, não preveniu no grupo HL+Lec quando comparado ao grupo HL (Tabela 1). A lecitina de soja aumentou o nível sérico HDLc nos grupos S+Lec e HL+Lec em relação ao grupo S e HL (Tabela 1). Observou-se uma relação inversa entre os níveis séricos da proteína C reativa e os de HDL, mostrando diminuição desta proteína nos grupos S+Lec e HL+Lec em relação aos grupos S e HL (Tabela 1).

Tabela 1 - Comparação dos níveis plasmáticos de lipídeos (mg/dL) e séricos da proteína C reativa (mg/dL) entre camundongos dos grupos S, S+Lec, HL e HL+Lec.

GRUPOS	S	S+Lec	HL	HL+Lec
Camundongos (N)	6	6	6	6
CT	249 \pm 16 ^a	181 \pm 11 ^b	630 \pm 32 ^c	634 \pm 3 ^c
LDLc	142 \pm 9 ^a	96 \pm 7 ^b	546 \pm 6 ^c	562 \pm 8 ^d
VLDLc	25 \pm 1 ^a	20 \pm 1 ^b	28,5 \pm 1 ^c	32 \pm 1 ^d
HDLc	59 \pm 2 ^a	64 \pm 2 ^b	26 \pm 2 ^c	40 \pm 3 ^d
TG	123,5 \pm 4 ^a	102 \pm 3 ^b	143 \pm 7 ^c	160 \pm 6 ^d
PROTEÍNA C REATIVA	6 \pm 0,5 ^a	3,5 \pm 0,5 ^b	14,5 \pm 1 ^c	4,5 \pm 0,5 ^b

Os valores foram expressos como média \pm EPM. Letras distintas indicam diferenças significantes entre grupos ($p < 0,05$).

Na razão do peso ventricular esquerdo em miligramas (mg) pelo peso do animal em gramas (g) verificou-se que a lecitina de soja preveniu a hipertrofia ventricular esquerda nos camundongos do grupo HL+Lec, observada somente no grupo HL (Tabela 2). Essa hipertrofia ventricular deve-se ao aumento do diâmetro dos cardiomiócitos (Tabela 2) e ao aumento do depósito de colágeno intersticial do miocárdio (Tabela 2 e Figura 1)

Tabela 2 - Comparação da proporção do peso ventricular esquerdo pelo peso do camundongo (mg/g); do diâmetro de cardiomiócito (μ m) e da área intersticial de colágeno do miocárdio ventricular esquerdo (%) entre camundongos dos grupos S, S+Lec, HL e HL+Lec.

GRUPOS	S	S+Lec	HL	HL+Lec
Camundongos (n)	6	6	6	6
Peso ventricular esquerdo/peso do camundongo(mg/g)	3,2 \pm 0,07 ^a	3,1 \pm 0,07 ^a	4,2 \pm 0,09 ^b	3,0 \pm 0,07 ^a
Diâmetro dos cardiomiócitos (μ m)	19 \pm 0,7 ^a	18 \pm 0,9 ^a	24 \pm 1,0 ^b	19 \pm 1,2 ^a
Área intersticial de colágeno no miocárdio esquerdo (%)	3,0 \pm 0,3 ^a	3,0 \pm 0,1 ^a	8,2 \pm 0,5 ^b	3,2 \pm 0,9 ^a

Os valores foram expressos como média \pm EPM. Letras distintas indicam diferenças significantes entre grupos ($p < 0,05$).

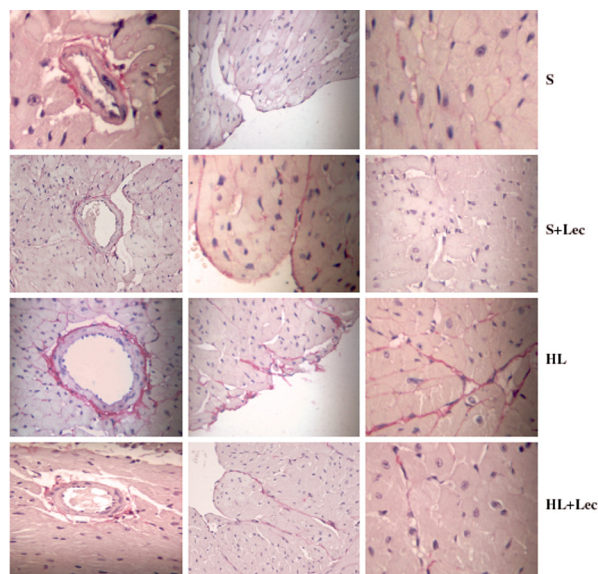


Figura 1- Fotomicrografia mostrando a distribuição do colágeno intersticial (marcado em vermelho pelo corante picosírius red) no miocárdio ventricular esquerdo dos camundongos dos grupos S, S+Lec, HL e HL+Lec (aumento 200X), com predomínio de colágeno na região perivascular e intersticial nos camundongos do grupo HL.

DISCUSSÃO

Estudos evidenciaram que dietas enriquecidas com lecitina modificaram a homeostasia do colesterol e o metabolismo das lipoproteínas (Leblanc et al., 2003), diminuindo os níveis plasmáticos do LDLc e aumentando a síntese de HDLc pelo fígado (Nicolosi et al., 2001). No presente estudo, os efeitos da lecitina de soja demonstraram ser benéficos em indivíduos com dislipidemia genética (hiperlipidemia mista moderada) não associada às dietas hiperlipídicas. Uma vez que, a lecitina de soja teve um efeito antidislipidêmico - reduzindo os níveis séricos do CT, LDLc, VLDLc, TG - e aumentou o HDLc em camundongos geneticamente dislipidêmicos, alimentados com dieta padrão para roedores (grupo S+Lec). Entretanto, quando estes animais receberam ração hiperlipídica, a lecitina de soja não preveniu a dislipidemia (hiperlipidemia mista severa), apenas aumentou o nível sérico do HDLc (grupo HL+Lec).

A hiperlipidemia mista severa dos camundongos do grupo HL pode ser considerada o fator metabólico indutor

do maior estresse oxidativo no sistema cardiovascular, aumentando a peroxidação lipídica da molécula de HDL e, conseqüentemente, sua remoção hepática (Christison et al., 1996) com diminuição dos seus níveis séricos. Devido à diminuição dos níveis séricos do HDL e das suas funções antioxidante e antiinflamatória, o processo inflamatório cardiovascular nos animais do grupo HL foi intenso, apresentando aumento dos níveis séricos da proteína C reativa e conseqüente hipertrofia ventricular esquerda, caracterizada por aumento dos diâmetros dos cardiomiócitos e depósito de colágeno intersticial. Esse estresse oxidativo já descrito neste modelo animal em alguns estudos (Krieger et al., 2006) em decorrência do processo inflamatório gerado pela dislipidemia (Garcia et al., 2008), pode diminuir a biodisponibilidade do óxido nítrico, o principal antihipertrófico cardíaco endógeno, favorecendo a HVE nos camundongos do grupo HL.

O efeito da lecitina de soja no metabolismo lipídico destes animais influenciou no processo inflamatório cardiovascular, reduzindo o nível sérico de proteína C reativa e prevenindo a hipertrofia ventricular esquerda nos camundongos do grupo HL+Lec. Tem sido claramente demonstrado que a proteína C reativa constitui um importante marcador de inflamação vascular subclínica crônica (inflamação de baixo grau) e de risco cardiovascular (Zebrac et al., 2002A; Zebrac et al., 2002B; Libby et al., 2002; Horne et al., 2000; Grundy et al., 1999). Neste estudo sugerimos que o aumento da HDL sérico observado nos camundongos HL+Lec pode ter prevenido a inflamação e o estresse oxidativo, impedindo desta forma o desenvolvimento da HVE.

Em conclusão, a utilização de lecitina de soja representa um tratamento e/ou uma prevenção alternativa de baixo custo para as dislipidemias, melhorando o perfil lipídico destas, principalmente quando não associadas à dieta hiperlipídica. Contudo, observamos que a lecitina de soja teve efeito preventivo no risco da HVE mesmo em dislipidemias associadas à dieta hiperlipídica, por aumentar os níveis séricos do HDL nesta condição metabólica.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq e à Universidade José do Rosário Vellano pelo apoio financeiro no desenvolvimento desse projeto; ao professor Vinícius Vieira Vignoli, pela revisão gramatical; ao biólogo Antônio Marcus Martins, pelo apoio técnico na histologia e à farmacêutica Neuceli de Cássia Dias Garcia Leal (Pharmavida – Chapadão do sul –MS), pela manipulação da lecitina de soja.

ABSTRACT

Effect of soy lecithin on lipids and C-reactive protein and the prevention of Left Ventricular Hypertrophy in hyperlipidemic mice

The regulation of lipid metabolism with drugs or natural foods is an important target for reducing the risk of cardiovascular disease. The aim of this study was to investigate the effects of soy lecithin on left ventricular hypertrophy (LVH) and dyslipidemia in

hypercholesterolemic mice. We used four experimental groups of LDLr-/- mice (aged 3 months), which received the following diets: Group S: standard diet, Group S+Lec: standard diet and soy lecithin; Group HL: hyperlipidic diet and Group HL+Lec: hyperlipidic diet and soy lecithin. After 15 days on these diets, blood was collected for analysis of serum lipids and C-reactive protein. The left ventricle was dissected out and weighed and the ratio of its weight to the body weight of the animal was calculated, after which it was processed histologically. Sections were stained with hematoxylin-eosin and picrosirius red, to assess morphological and morphometric changes in the ventricle. In Group S+Lec, the soy lecithin had an antidyslipidemic effect and enhanced the serum levels of HDL. However, in the mice in group HL+Lec, soy lecithin did not prevent dyslipidemia, only increasing the serum level of HDL. These effects in these animals influenced the cardiovascular inflammatory process, reducing the level of serum C-reactive protein and preventing LVH. Soy lecithin could thus be used as a treatment or a low-cost alternative preventative measure against dyslipidemia associated with a non-fat diet. However, soy lecithin increases the serum level of HDL, reducing the risk of LVH even in dyslipidemia associated with a high-fat diet.

Keywords: Soy lecithin. Dyslipidemia. Left ventricular hypertrophy, mice.

REFERÊNCIAS

- Brown G, Albers JJ, Fisher LD Schaefer SM, Lin JT, Kaplan C. Zhao XQ, Bisson BD, Fitzpatrick VF, Dodge HT. Regression of coronary artery disease as a result of intensive lipid lowering therapy in men high levels of apolipoprotein B. *N Engl J Med.* 1990; 323: 1290-8.
- Buchwald H, Varco RL, Matts JP, Long JM, Fitch LL, Campbel GS. Effects of partial ileal bypass surgery on mortality and morbidity from coronary heart disease in patients with hypercholesterolemia. Report of the Program of the Surgical Control of Hyperlipidemias. *N Engl J Med.* 1990; 323:946-55.
- Castelli WP et al. Distribution of triglyceride and total, LDL and HDL cholesterol in several populations: a cooperative lipoprotein phenotyping study. *J Chronic Dis.* 1977; 30(3):147-69.
- Christison J, Karjalainen A, Brauman J, Bygrave F, Stocker R. Rapid reduction and removal of HDL- but not LDL-associated cholesteryl ester hydroperoxides by rat liver perfused in situ. *Biochem J.* 1996; 314:739-42.
- Davi G, Alessandrini P, Mezzetti A, Minotti G, Bucciarelli T, Costantini F, Cipollone F, Bon GB, Ciabattini G, Patrono C. *In vivo* formation of 8-epi-prostaglandin F₂ is increased in hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17:3230-5.
- Downs JR, Clearfield M, Weis S, Whitney E, Shapiro DR, Beere PA, Langendorfer A, Stein EA, Kruyer W, Gotto AM Jr. Primary prevention of acute coronary events with

- lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study. *JAMA* 1998; 279:1615–22.
- Garcia JA, Santos L, Moura AL, Ricardo KF, Wanschel AC, Shishido SM, Spadari-Bratfisch RC, de Souza HP, Krieger MH. S-nitroso-n-acetylcysteine (SNAC) prevents myocardial alterations in hypercholesterolemic LDL receptor knockout mice by antiinflammatory action. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2008; 51(1):78-85.
- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without the use of preparatory ultracentrifugation. *Clin Chem.* 1972; 18:499-502.
- Grundey SM, Pasternak R, Greenland P, Smith Jr S, Fuster V. Assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assessment equations: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology. *Circulation* 1999; 100: 1481-92.
- Horne BD, Muhlestein JB, Carlquist JF, Bair TL, Madsen TE, Hart NI, Anderson JL. Statin therapy, lipid levels, C reactive protein and the survival of patients with angiographically severe coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2000; 36:1774-80.
- Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR, Histochem J. Picrosirius red staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J.* 1979; 11(4):447-55.
- Kannel WB, Casteli WP, Gordon TL. Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease. News perspectives based on the Framingham study. *Ann Intern Med.* 1979; 90: 85-91.
- Kastelein JJ. Simvastatin with or without ezetimibe in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med.* 2008; 358(14):1431–43.
- Kingsbury KJ and Bondy G. Understanding the essentials of blood lipid metabolism. *Prog Cardiovasc Nurs.* 2003; 18(1):13–8.
- Krieger MH, Santos KF, Shishido SM, Wanschel AC, Estrela HF, Santos L, De Oliveira MG, Franchini KG, Spadari-Bratfisch RC, Laurindo FR. Antiatherogenic effects of S-nitroso-N-acetylcysteine in hypercholesterolemic LDL receptor knockout mice. *Nitric Oxide.* 2006; 14:12-20.
- LeBlanc MJ, Brunet S, Bouchard, G. Lamireau T, Yousef IM, Gavino V, Lévy E, Tuchweber B. Effects of dietary soybean lecithin on plasma lipid transport and hepatic cholesterol metabolism in rats. *J Nutr Biochem.* 2003; 14(1):40–8.
- Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and Atherosclerosis. *Circulation.* 2002; 105:1135-43.
- Lichtenstein, A.H. Soy protein, isoflavones and cardiovascular disease risk. *J Nutr.* 1998; 128(10):1589-92.
- Lima JCC, Correia LCL, Silva AM, Lima DL. Usando proteína C reativa de alta sensibilidade (PCR-AS) como preditor de doença cardiovascular. *NewsLab* 2000; 41: 164-6.
- Nicolosi RJ, Wilson TA, Lawton C, Handelsman GJ. Dietary effects on cardiovascular disease risk factors: beyond saturated fatty acids and cholesterol. *J Am Coll Nutr.* 2001; 20(5):421S–7S.
- Ornish D, Brorun SE, Schermitz LW, Billings JH, Armstrong WT, Ports TA. Can lifestyle changes reverse coronary heart disease? The lifestyle heart Trial. *Lancet* 1990; 336:129-33.
- Schaefer, E.J. Lipoproteins, nutrition, and heart disease. *Am J Clin Nutr.* 2002; 75:191-212.
- Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, MacFarlane PW, McKillop JH, Packard CJ. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med.* 1995; 333:1301–7.
- Zebrack JS, Anderson JL, Maycock CA, Horne BD, Bair TL, Muhlestein JB. Usefulness of high-sensitivity C-reactive protein in predicting long-term risk of death or acute myocardial infarction in patients with unstable or stable angina pectoris or acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 2002A; 89:145-9.
- Zebrack JS, Muhlestein JB, Horne BD, Anderson JL. The Intermountain Heart Collaboration Study Group. C-reactive protein and angiographic coronary artery disease: independent and additive predictors of risk in subjects with angina. *J Am Coll Cardiol.* 2002B; 39:632-7.

