

Resveratrol Provoca Efeitos Antiaterogênicos em um Modelo Animal de Aterosclerose

Resveratrol Causes Antiatherogenic Effects in an Animal Model of Atherosclerosis

Rossane Serafim Matos, Liz Andréa Villela Baroncini, Leonardo Brandão Précoma, Guilherme Winter, Pedro Henrique Lambach Caron, Flávia Kaiber, Dalton Bertolim Précoma

Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil

Resumo

Fundamento: O resveratrol protege o sistema cardiovascular por meio de uma série de mecanismos, incluindo atividades antioxidantes e antiplaquetárias.

Objetivo: Avaliar os possíveis efeitos anti-inflamatórios e antiaterogênicos do resveratrol, utilizando coelhos alimentados com uma dieta hipercolesterolêmica (1% de colesterol).

Métodos: Vinte coelhos brancos adultos do sexo masculino foram selecionados e divididos em dois grupos: grupo controle (GC), 10 coelhos; e grupo resveratrol (GR), 10 coelhos. Os animais foram alimentados com uma dieta hipercolesterolêmica por 56 dias. Para a dieta do GR, o resveratrol (2mg/kg peso/dia) foi adicionado do 33^o ao 56^o dia.

Resultados: Não houve diferença significativa entre os grupos no colesterol sérico total, no colesterol HDL, no colesterol LDL e nos triglicerídeos. No GC, 70% apresentaram lesões ateroscleróticas avançadas da aorta (tipos III, IV, V ou VI). Todos os animais do GR apresentaram lesões ateroscleróticas leves da aorta (tipos I ou II) ou não apresentaram lesões. A razão entre a área intimal e a área da camada intimal/medial mostrou-se significativamente menor no GR quando comparada ao GC ($p < 0,001$). Áreas positivas para moléculas de adesão celular vascular-1 (VCAM-1) foram menores no GR ($p = 0,007$). As concentrações de proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) e de interleucina-6 (IL-6) mostraram-se significativamente menores no GR do que no GC ($p = 0,039$ e $p = 0,015$, respectivamente).

Conclusão: O resveratrol apresentou importantes efeitos antiaterogênicos e anti-inflamatórios em um modelo animal com coelhos alimentados com uma dieta hipercolesterolêmica. (Arq Bras Cardiol 2012;98(2):136-142)

Palavras-chave: Resveratrol, aterosclerose, antioxidantes, dislipidemias.

Abstract

Background: Resveratrol protects the cardiovascular system by a number of mechanisms, including antioxidant and anti-platelet activities.

Objective: To assess the potential anti-inflammatory and antiatherogenic effects of resveratrol using rabbits fed a hypercholesterolemic diet (1% cholesterol).

Methods: Twenty white male rabbits were selected and divided into two groups: control group (CG), 10 rabbits; and resveratrol group (RG), 10 rabbits. The animals were fed a hypercholesterolemic diet for 56 days. For the RG diet, resveratrol (2mg/kg weight/day) was added from days 33 - 56.

Results: There was no significant difference in the total serum cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, and triglycerides between the groups. Of the CG, 70% had advanced aortic atherosclerotic lesions (types III, IV, V, or VI). All animals from the RG had mild aortic atherosclerotic lesions (types I or II, or no lesions). The intima area and the intima/media layer area ratio was significantly lower in the RG as compared to the CG ($p < 0.001$). Positive areas for VCAM-1 molecules were lower in the RG ($p = 0.007$). The MCP-1 and IL-6 concentrations were lower in the RG than the CG ($p = 0.039$ and $p = 0.015$, respectively).

Conclusion: Resveratrol had significant anti-atherogenic and anti-inflammatory effects in an animal model with rabbits fed a hypercholesterolemic diet (1% cholesterol). (Arq Bras Cardiol 2012;98(2):136-142)

Keywords: Resveratrol; antioxidants; atherosclerosis; dyslipidemias.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Liz Andréa Villela Baroncini •

Rua Buenos Aires, 764 / 601, Batel - 80250-070 - Curitiba, PR, Brasil
E-mail: lizavb@cardiol.br; lizandreabaroncini@hotmail.com

Artigo recebido em 26/05/11, revisado recebido em 20/07/11; aceito em 09/08/11.

Introdução

O transresveratrol (resveratrol) é um composto polifenólico encontrado em uvas frescas, suco de uva e vinho. O resveratrol é produzido pela pele das uvas em resposta à exposição fúngica. O resveratrol tem sido implicado em muitos estudos, mas não em todos, como um mediador da proteção cardiovascular independente de álcool que seria conferida pela ingestão de vinho tinto¹. O resveratrol protege o sistema cardiovascular por uma série de mecanismos, incluindo: a inibição da oxidação de baixa densidade da lipoproteína mediada pelo resveratrol; a inibição da agregação plaquetária; a síntese de eicosanoides pró-aterogênicos; a inibição da proliferação celular; e a elevação do vasorrelaxamento. Estudos recentes também demonstraram que o resveratrol suprime a indução do fator tecidual pró-coagulante, um dos principais componentes responsáveis pela alta mortalidade por doença cardiovascular²⁻⁵. O objetivo deste estudo foi avaliar os possíveis efeitos anti-inflamatórios e antiaterogênicos do resveratrol em modelo animal experimental, com coelhos alimentados com uma dieta hipercolesterolêmica (1% de colesterol).

Métodos

Animais

Selecionaram-se 20 coelhos brancos adultos do sexo masculino, provenientes da Nova Zelândia e com idade média de 30 dias. Os animais foram tratados de acordo com os princípios norteadores sobre o cuidado e uso de animais. A aprovação do protocolo foi obtida a partir do Comitê de Pesquisa Animal da Pontifícia Universidade Católica. Os animais foram divididos em dois grupos: grupo controle (GC), 10 coelhos; e grupo resveratrol (GR), 10 coelhos. Durante os 56 dias do estudo, os animais foram alimentados com uma dieta específica para a espécie (Nuvilab[®]), com 1% de colesterol de ovos liofilizados. Do 29^º ao 56^º dia, o resveratrol (Resveratrol[®], Laboratório Galena[®]) foi adicionado à dieta do GR (2 mg/kg/dia) e administrado por gavagem oral. No 56^º dia, os animais foram submetidos à dissecação do arco aórtico e da aorta descendente. A anestesia foi induzida com quetamina (3,5 mg/kg, Vetanarcol^á, König) e xilazina intramuscular (5 mg/kg, Coopazine^á, Coopers). Após o procedimento, os coelhos foram sacrificados por dose letal de barbitúricos. O tamanho da amostra foi calculado com base no estudo de Zou e cols.⁶.

Química sanguínea

Amostras de sangue foram obtidas no primeiro dia do experimento e imediatamente antes do sacrifício por punção cardíaca. A avaliação clínico-laboratorial incluiu colesterol total (CT), colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-C), colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e triglicerídeos (TGC). As medidas foram aferidas por meio de sistema automatizado (Abbott Architect ci8200, Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, EUA).

Análise histológica

As artérias foram retiradas e lavadas com formaldeído tamponado a 10% com fosfato (pH = 7,6) e fixadas em parafina. Para a avaliação desse modelo experimental, foram adotadas medidas histológicas qualitativas e quantitativas. Os cortes corados por hematoxilina e eosina (HE) foram analisados cegamente em um microscópio de cinco cabeças da marca Olympus^á BX 40. As lesões ateroscleróticas foram classificadas de 0 a VI, de acordo com os critérios qualitativos propostos por Stary e cols.⁷⁻⁹. A análise morfológica foi realizada em orceína corada (elástica) para determinar a área intimal e as camadas mediais do arco aórtico e da aorta descendente, bem como para determinar a razão entre as áreas intimal e medial (RIM - área da camada intimal dividida pela área da camada medial). Para essa avaliação, o segmento mais lesado ou o segmento em estágio mais avançado de aterosclerose foi previamente selecionado no corte corado por HE. As análises foram realizadas microscopicamente em conjunto com o software Image Pro-plus[®] 4.5 (Media Cybernetics Inc., Silver Spring, MD, EUA).

Imuno-histoquímica

Avaliamos a concentração da molécula de adesão celular vascular (VCAM-1), da proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) e da interleucina-6 (IL-6) na íntima das artérias principais, utilizando anticorpos monoclonais. A leitura foi realizada com um microscópio Olympus[®] BX50, com objetiva de 20 vezes.

Análise estatística

As variáveis categóricas foram expressas em porcentagens, enquanto as variáveis contínuas foram expressas como a média \pm DP e medianas. O teste de Shapiro-Wilks foi utilizado para testar a normalidade da amostra. Para as condições de simetria, algumas variáveis foram submetidas à transformação logarítmica. Em relação às variáveis nominais dicotômicas, o teste exato de Fisher foi empregado para comparar os grupos. No que se refere aos parâmetros quantitativos, o teste t de Student e o teste não paramétrico de Mann-Whitney foram utilizados para a comparação entre o GC e o GR. A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

Resultados

Dois animais do GC morreram no meio do experimento e foram retirados da análise final. O peso corpóreo inicial médio dos animais do GC (1,78 kg) e do GR (1,82 kg) foi semelhante ($p = 0,274$). No final do estudo, os animais do GC apresentaram peso corpóreo médio de 2,58 kg, enquanto os animais do GR tinham peso corpóreo médio de 2,39 kg ($p = 0,537$).

Perfil lipídico

Os níveis basais de CT, HDL-C, LDL-C e TG sérico mostraram-se relativamente equivalentes em todos os grupos antes do início da dieta. No final do experimento, uma análise desses níveis não indicou diferença significativa entre os grupos (Tabela 1).

Tabela 1 - Perfil lipídico entre o grupo controle (GC) e o grupo resveratrol (GR)

Variável	Grupo	Média	Mínimo	Máximo	DP (±)	p
CT (basal)	GC	70,30	47,00	115,00	21,79	0,008
	GR	44,50	30,00	62,00	10,98	
CT (eutanásia)	GC	1676,70	347,00	2885,00	768,67	0,112
	GR	2173,75	1626,00	2820,00	353,84	
TGC (basal)	GC	196,40	96,00	295,00	71,94	0,010
	GR	114,00	78,00	181,00	37,11	
TGC (eutanásia)	GC	220,20	60,00	669,00	204,32	0,762
	GR	158,14	114	226,00	75,24	
Colesterol LDL (basal)	GC	11,80	2,00	49,00	15,17	0,346
	GR	2,08	1,37	2,75	0,40	
Colesterol LDL (eutanásia)	GC	1596,12	298,00	2719,20	743,03	0,114
	GR	2084,63	1373,00	2748,00	399,96	
Colesterol HDL (basal)	GC	19,38	12,00	29,00	6,33	0,280
	GR	16,38	11,00	25,00	4,24	
Colesterol HDL (eutanásia)	GC	37,40	29,00	50,00	7,29	0,449
	GR	34,25	25,00	55,00	9,97	

CT - colesterol total; TGC - triglicérides; LDL - colesterol de baixa densidade; HDL - colesterol de alta densidade.

Análise histológica

No final dos experimentos, ficou demonstrado que houve uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos de animais em relação à probabilidade de lesões dos tipos I, II, III, IV, V, VI ou ausência de lesões. Dos animais presentes no GC, 70% apresentaram lesões ateroscleróticas avançadas (tipos III, IV e V) no arco aórtico e na aorta descendente, enquanto 100% dos animais presentes no GR apresentaram lesões ateroscleróticas leves (tipos I e II) ou não apresentaram nenhuma lesão no arco aórtico e na aorta descendente (Figura 1).

Análise morfométrica

A área íntima apresentou-se significativamente menor no GR do que no GC ($p = 0,001$, Figura 1). Houve uma redução significativamente maior na razão entre as áreas íntima e medial (RIM) no GR do que no GC ($p = 0,001$). Não houve diferença estatisticamente significativa entre a área medial dos grupos no arco aórtico e na aorta descendente (Tabela 2).

Imuno-histoquímica

Uma análise das áreas positivas para a VCAM-1 revelou uma diferença significativa entre os grupos, com maior concentração no GC ($p = 0,007$). A análise da MCP-1 e da IL-6 mostrou valores significativamente maiores no GC em comparação ao GR ($p = 0,039$ e $p = 0,015$, respectivamente; Tabela 3, Figura 2).

Discussão

O resveratrol, presente no suco de uva e no vinho, é considerado o principal polifenol responsável por propiciar

benefícios cardiovasculares devido às propriedades antioxidantes e atividades antiplaquetárias^{10,11}. O resveratrol possui propriedades anti-inflamatórias que se manifestam como a inibição da expressão de ICAM-1 e VCAM, a adesão de monócitos às células endoteliais, a inibição da síntese de TNF- α e IL-1- β induzida por lipopolissacarídeos (LPS) e a liberação de IL-6 dos monócitos¹². O resveratrol também inibe a migração e a proliferação de células musculares lisas vasculares (CMLVs) para a camada íntima, que é considerada a condição *sine qua non* da aterogênese^{13,14}. Coletivamente, esses efeitos seriam responsáveis pela diminuição da incidência de doenças cardíacas na população francesa, processo denominado “paradoxo francês” (taxa de mortalidade por doenças cardiovasculares muito baixa, apesar de uma dieta rica em gordura), devido à preferência da população pelo vinho tinto¹⁵. Neste estudo, foram induzidas lesões ateroscleróticas com a adição de ovo liofilizado na dieta normal de coelhos, durante quatro semanas. Esse modelo experimental de indução de aterosclerose com o uso de ovo liofilizado é raramente descrito na literatura, embora seja comprovadamente eficiente e menos oneroso, quando comparado ao emprego de colesterol industrializado. O resveratrol foi adicionado na dieta do GR após quatro semanas, para testar sua capacidade de interferir em lesões ateroscleróticas estabelecidas. O estudo demonstrou que o resveratrol inibe a progressão de lesões ateroscleróticas e reduz a área íntima e a RIM, de modo que os animais não apresentaram lesões avançadas no arco aórtico e na aorta descendente no GR. Em estudo semelhante que também utilizou coelhos, Castro e cols.¹⁶ concluíram que o resveratrol funcionou como agente preventivo no desenvolvimento de

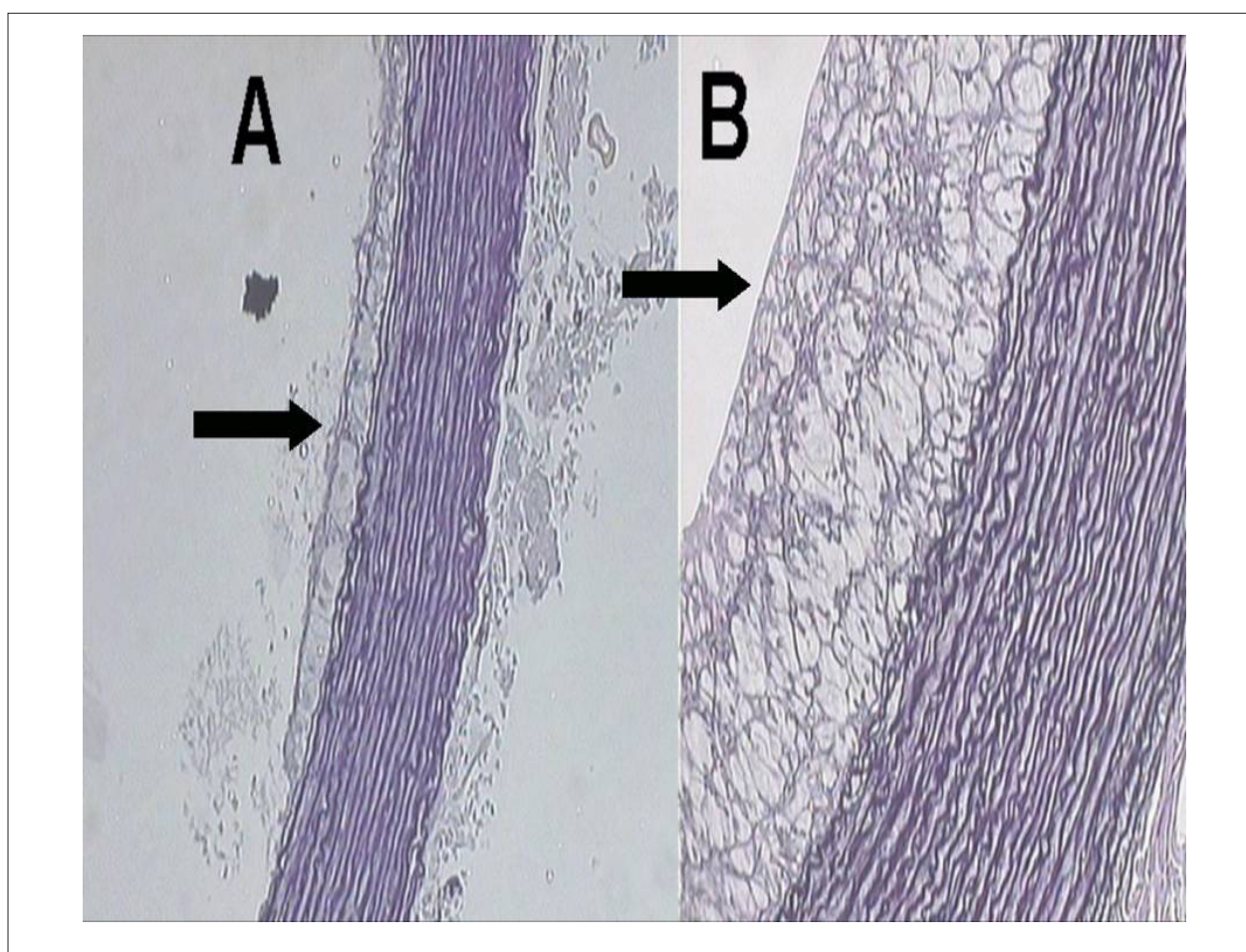


Fig. 1 - Cortes histológicas da aorta descendente. A - Grupo resveratrol com lesão aterosclerótica (tipo I). A seta preta indica a camada íntima. B - Grupo controle com lesão aterosclerótica (tipo III). A seta preta indica a camada íntima.

Tabela 2 - Parâmetros histopatológicos quantitativos entre o grupo controle (GC) e o grupo resveratrol (GR), expresso em micrômetros quadrados

Variável	Grupo	n	Média	Mediana	DP (±)	p*
Íntima	GC	10	75,10	68,25	51,66	< 0,001
	GR	8	4,76	1,38	6,75	
Média	GC	10	176,59	196,99	52,69	0,315
	GR	8	209,70	205,49	39,77	
RIM	GC	10	0,41	0,37	0,25	< 0,001
	GR	8	0,03	0,01	0,04	

RIM - razão íntima/média; * Teste de Mann-Whitney.

lesões ateroscleróticas, tendo em vista a observação de um baixo grau de invasão das células espumosas na túnica média dos animais tratados com resveratrol. Os mecanismos pelos quais o resveratrol inibe a formação de lesões ateroscleróticas avançadas parecem decorrer do efeito inibitório sobre a oxidação do LDL, a agregação plaquetária e a proliferação vascular de

células musculares lisas. A oxidação do LDL é a principal causa de lesão endotelial e indução da expressão de moléculas pró-inflamatórias em células endoteliais. Estudos anteriores relatam que o resveratrol protege os lipídios da degradação peroxidativa e interrompe a captação de LDL oxidado na parede vascular de forma dependente da concentração¹⁷⁻¹⁹.

Tabela 3 - Variáveis imuno-histoquímicas na aorta descendente entre o grupo controle (GC) e o grupo de resveratrol (GR), expressas em micrômetros quadrados

Variável	Grupo	n	Média	Mediana	DP (±)	p*
VCAM-1	GC	10	5339,07	5209,03	3791	0,007
	GR	8	1452,96	1035,59	1137	
MCP-1	GC	10	11772	11003	7947	0,039
	GR	8	5509	4781	2745	
IL-6	GC	10	3852	3623	2694	0,015
	GR	8	1273	1128	580	

VCAM-1 - molécula de adesão da célula vascular; MCP-1 - proteína quimiotática de monócitos-1; IL-6 - interleucina-6; * Teste t de Student

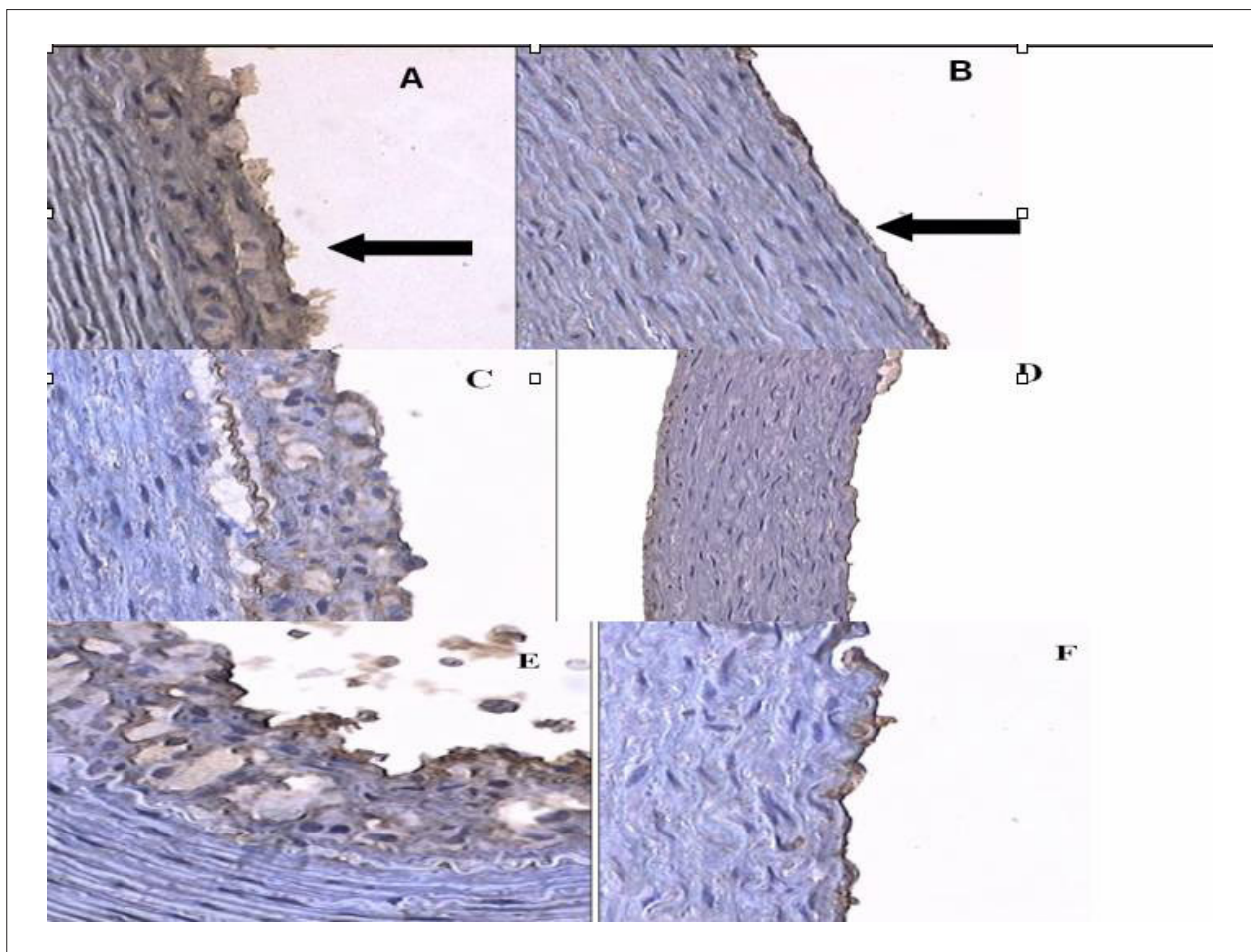


Fig. 2 - Imuno-histoquímica demonstra as áreas positivas para MCP-1, VCAM-1 e IL-6. **A -** Grupo controle. A seta preta indica a camada íntima com áreas positivas para MCP-1 (áreas salpicadas de marrom). **B -** Grupo resveratrol. A seta preta indica a camada íntima sem áreas positivas para MCP-1. **C -** Grupo controle. Áreas positivas para VCAM-1 (áreas salpicadas de marrom). **D -** Grupo resveratrol. Áreas positivas para VCAM-1. **E -** Grupo controle. Áreas positivas para IL-6 (áreas salpicadas de marrom). **F -** Grupo resveratrol. Áreas positivas para IL-6.

No entanto, existem resultados conflitantes sobre os efeitos do resveratrol nos níveis de lipídios, pois alguns estudos não demonstraram redução nos níveis de lipídios plasmáticos induzidos por essa substância²⁰. O presente estudo não revelou qualquer evidência de uma diferença significativa no

perfil lipídico entre os grupos, o que pode ter refletido o curto período do experimento. Daugherty e cols.²¹, em um estudo semelhante em coelhos hipercolesterolêmicos, mostraram que a redução nas lesões ateroscleróticas secundárias à redução do LDL-C é um processo que leva meses ou até mesmo anos. Em

contrapartida, no presente estudo, demonstramos que uma dieta hipercolesterolêmica faz com que o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas associadas a um processo inflamatório, juntamente com o resveratrol, reduziu a concentração de VCAM-1, MCP-1 e IL-6 na camada íntima de coelhos hipercolesterolêmicos. Sabe-se que a inflamação media todas as fases da aterosclerose desde a iniciação até a progressão e, finalmente, a ruptura da placa¹⁷. De fato, a VCAM-1, a MCP-1 e a IL-6 facilitam a aderência dos monócitos à superfície endotelial e a migração transendotelial de leucócitos²²⁻²⁵. Este processo está exacerbado quando se elevam os níveis de LDL no sangue devido a maus hábitos alimentares ou predisposição genética e estimula o endotélio a aumentar a expressão de moléculas de adesão e potencializa a resposta inflamatória²⁶. Embora não correlacionemos os níveis de lipídeos no sangue ao processo inflamatório, acreditamos que essa possível relação deve ser objeto de estudos futuros. Além disso, não analisamos a concentração de monócitos e de macrófagos, que parecem desempenhar um papel crucial no desenvolvimento da aterosclerose. Essa célula parece estar envolvida em todas as fases do desenvolvimento da placa aterosclerótica e é cada vez mais considerada uma

candidata para a intervenção terapêutica e um biomarcador da progressão da doença e da resposta à terapia²⁷⁻²⁹.

Conclusão

O resveratrol apresentou importantes efeitos antiaterogênicos e anti-inflamatórios em modelo animal, utilizando-se coelhos alimentados com uma dieta hipercolesterolêmica (1% de colesterol).

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de tese de mestrado de Rossane Serafim Matos pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

Referências

1. Turner RT, Evans GL, Zhang M, Maran A, Sibonga JD. Is resveratrol an estrogen agonist in growing rats? *Endocrinology*. 1999;140(1):50-4.
2. Pendurthi US, Rao LVM. Resveratrol suppresses agonist-induced monocyte adhesion to cultured human endothelial cells. *Thromb Res*. 2002;106(4-5):243-8.
3. Wilson T, Knight TJ, Beitz DC, Lewis DS, Engen RL. Resveratrol promotes atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *Life Sci*. 1996;59(1):PL15-21.
4. Pace-Asciak CR, Rounova O, Hahn SE, Diamandis EP, Goldberb DM. Wines and grape juices as modulators of platelet aggregation in healthy human subjects. *Clin Chim Acta*. 1996;246(1-2):163-82.
5. Pace-Asciak CR, Hahn S, Diamandis EP, Soleas G, Goldberg DM. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implications for protection against coronary heart disease. *Clin Chim Acta*. 1995;235(2):207-19.
6. Zou JG, Wang ZR, Huanhg YZ, Cao KJ, Wu JM. Effect of red wine and wine polyphenol resveratrol on endothelial function in hypercholesterolemic rabbits. *Int J Mol Med*. 2003;11(3):317-20.
7. Stary HC, Blankenhorn DH, Chandler AB, Glagov S, Insull W Jr, Richardson M, 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. *Circulation*. 1992;85(1):391-405.
8. Stary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull W Jr, Rosenfeld ME, et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis: a report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1994;89(5):2462-78.
9. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis: a report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1995;92(5):355-74.
10. Fulgenzi A, Bertelli AAE, Magni E, Ferrero E, Ferrero ME. In vivo inhibition of TNF α -induced vascular permeability by resveratrol. *Transplant Proc*. 2001;33(3):2341-3.
11. Olas B, Wachowicz B. Resveratrol and vitamin C as antioxidants in blood platelets. *Thromb Res*. 2002;106(2):143-8.
12. Slater SJ, Seiz JL, Cook AC, Stagliano BA, Buzas CJ. Inhibition of protein kinase C by resveratrol. *Biochim Biophys Acta*. 2003;1637(1):59-69.
13. Poussier B, Cordova AC, Becquemin JP, Sumpio BE. Resveratrol inhibits vascular smooth muscle cell proliferation and induces apoptosis. *J Vasc Surg*. 2005;42(6):1190-7.
14. Chao HH, Juan SH, Liu JC, Yang HY, Yang E, Cheng TH, et al. Resveratrol inhibits angiotensin II-induced endothelin-1 gene expression and subsequent proliferation in rat aortic smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol*. 2005;515(1-3):1-9.
15. Rocha KK, Souza GA, Ebaid GX, Seiva FR, Cataneo AC, Novelli EL. Resveratrol toxicity: effects on risk factors for atherosclerosis and hepatic oxidative stress in standard and high-fat diets. *Food Chem Toxicol*. 2009;47(6):1362-7.
16. Castro M, Pacheco MMR, Machado MRF. Morphology of aortic arch in rabbits with atherosclerosis treated with resveratrol. *Intern J Appl Res Vet Med*. 2009;7(4):190-5.
17. Fan E, Zhang L, Jiang S, Bai Y. Beneficial effects of resveratrol on atherosclerosis. *J Med Food*. 2008;11(4):610-4.
18. Nigdikar SV, Williams NR, Griffin BA, Howard AN. Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in vivo. *Am J Clin Nutr*. 1998;68(2):258-65.
19. Shanmuganayagam D, Warner TF, Krueger CG, Reed JD, Folts JD. Concord grape juice attenuates platelet aggregation, serum cholesterol and development of atheroma in hypercholesterolemic rabbits. *Atherosclerosis*. 2007;190(1):135-42.
20. Castro M, Veiga APM, Pacheco MR. Plasma lipid profile of experimentally induced hyperlipidemic New Zealand white rabbits is not affected by resveratrol. *J Appl Res*. 2009;9(1):18-22.

21. Daugherty A, Schonfeld G, Sobel BE, Lange LG. Metabolism of very low density lipoproteins after cessation of cholesterol feeding in rabbits: a factor potentially contributing to the slow regression of atheromatous plaques. *J Clin Invest.* 1986;77(4):1108-15.
22. Tang W, Pankow JS, Carr JJ, Tracy RP, Bielinski SJ, North KE, et al. Association of sICAM-1 and MCP-1 with coronary artery calcification in families enriched for coronary heart disease or hypertension: the NHLBI Family Heart Study. *BMC Cardiovasc Disord.* 2007;7:30.
23. Ferrero ME, Bertelli AE, Fulgenzi A, Pellegatta F, Corsi MM, Bonfrate M, et al. Activity in vitro of resveratrol on granulocyte and monocyte adhesion to endothelium *Am J Clin Nutr.* 1998;68(6):1208-14.
24. Carluccio MA, Siculella L, Ancora MA, Massaro M, Scoditti E, Storelli C, et al. Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: antiatherogenic properties of mediterranean diet phytochemicals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(4):622-9.
25. Wung BS, Hsu MC, Wu CC, Hsieh CW. Resveratrol suppresses IL-6-induced ICAM-1 gene expression in endothelial cells: effects on the inhibition of STAT3 phosphorylation. *Life Sci.* 2005;78(4):389-97.
26. McLaren JE, Ramji DP. Interferon gamma: a master regulator of atherosclerosis. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2009;20(2):125-35.
27. Saha P, Modarai B, Humphries J, Mattock K, Waltham M, Burnand KG, et al. The monocyte/macrophage as a therapeutic target in atherosclerosis. *Curr Opin Pharmacol.* 2009;9(2):109-18.
28. Ghosh S, Zhao B, Bie J, Song J. Macrophage cholesteryl ester mobilization and atherosclerosis. *Vascul Pharmacol.* 2010;52(1-2):1-10.
29. Prieur X, Röszer T, Ricote M. Lipotoxicity in macrophages: evidence from diseases associated with the metabolic syndrome. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1801(3):327-37.