

ELISABETH MOLNAR BAYER DE CASTRO

LIPOPROTEÍNAS E DOENÇAS  
CÁRDIO-VASCULARES

PORTO  
JULHO DE 1990

ELISABETH MOLNAR BAYER CASTRO

**LIPOPROTEÍNAS E DOENÇAS CÁRDIO-VASCULARES**

FACULDADE DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE DO PORTO

JULHO DE 1990

ELISABETH MOLNAR BAYER CASTRO

Assistente da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

**LIPOPROTEÍNAS E DOENÇAS CÁRDIO-VASCULARES**

Dissertação de candidatura ao grau  
de Doutor apresentada à Faculdade  
de Farmácia da Universidade do Porto

JULHO DE 1990

Este trabalho foi em parte realizado com o apoio financeiro do Centro de Citologia Experimental (INIC), Reitoria e Fundação Gomes Teixeira da Universidade do Porto.

Ao Zé

## Agradecimentos

Ao Professor Doutor Francisco Carvalho Guerra pelo muito que me ensinou como mestre, pela sua orientação, disponibilidade e amizade.

Ao Professor Doutor James Shepherd a sua valiosa co-orientação, o ter facultado incondicionalmente o uso de todo o equipamento e reagentes do Departamento de Patologia Bioquímica da Universidade de Glasgow, assim como a sua disponibilidade e amizade.

Ao Doutor Chris Packard, a Muriel Caslake e a todos os que trabalham no referido departamento, pela disponibilidade, a ajuda e amizade com que me fizeram sentir em casa.

Ao Professor Doutor Fernando Sena Esteves, com quem comecei a trabalhar nesta casa como monitora, pela confiança que sempre em mim depositou, assim como pela colaboração e amizade.

Ao Professor Doutor Frank Lingren e Robert Burton pelo apoio dado nos meus primeiros passos na investigação científica.

Na pessoa da Professora Doutora Natércia Teixeira, toda a amizade e apoio recebido dos meus colegas do departamento de Bioquímica.

A todos os Professores da Faculdade de Farmácia pelo seu contributo para a minha formação. Lembro com saudade os que já partiram do nosso convívio.

Aos Professores Auxiliares, que foram meus colegas durante tantos anos difíceis, toda a amizade, apoio e momentos de convívio.

Aos Assistentes mais novos pelo carinho que me dispensam. Para eles o desejo dum caminho mais fácil.

À Dr<sup>a</sup>. Maria Palmira Dias Martins pela execução dos lipidogramas.

À Sr<sup>a</sup> D. Maria Luísa Fernandes Maia Rodrigues pela sua pronta disponibilidade na ajuda.

À Dr<sup>a</sup> Aida Gonçalves e Sr<sup>a</sup> D. Fátima Cruz pela sua colaboração.

Pela obtenção dos soros patológicos aos Professores Doutores Manuel Rodrigues Gomes e José Fortunato e muito especialmente ao Dr. António Castro Ribeiro.

À Dr<sup>a</sup> Lúcia Sá pela sua colaboração e total disponibilidade no encaminhamento dessas amostras.

À Dr<sup>a</sup> Olga Massa pela sua colaboração.

Na pessoa da Dr<sup>a</sup> Inês Magalhães a possibilidade do uso da ultracentrífuga no Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar.

Ao Centro de Citologia Experimental (INIC) a ajuda económica e a colaboração amiga encontrada.

Aos Directores dos Departamentos de Farmacologia e Bromatologia a possibilidade de utilização dos respectivos computadores, assim como a disponibilidade manifestada pelos meus colegas dos respectivos departamentos.

À Sr<sup>a</sup> D. Maria Amélia de Sousa, à Sr<sup>a</sup> D. Maria Emília Madureira e ao Sr. Alípio Almeida pela sua colaboração ao longo de todos estes anos.

Ao Eng. Rui Pinto do Serviço de Iconografia pela colaboração prestada.

À Sr<sup>a</sup> D. Maria Fernanda Pereira pelo empenho, amigo, com que colaborou na execução gráfica deste trabalho.

Aos Serviços Administrativos, em especial à Dr<sup>a</sup> Maria das Dores Sousa Lobo, Sr<sup>a</sup> D. Maria Noémia Lopes Machado de Sousa e Sr<sup>a</sup> D. Maria do Céu Pires de Lima pelas facilidades que me concederam.

A todos os que tornaram possível este trabalho, através da oferta do seu sangue ou por qualquer outro meio.

Para finalizar, um obrigado muito especial ao meu marido, aos meus filhos e aos meus pais, sem cuja compreensão e colaboração este trabalho não teria sido possível.

Pedindo a Deus que, apesar de todas as dificuldades, continue a permitir a conciliação duma vida profissional digna com uma vida familiar equilibrada.

# Índice

## A - Introdução

### 1 - Citogénese das lesões de aterosclerose

Topografia das lesões provocadas por aterosclerose

Teorias sobre a formação de aterosclerose:

- Teoria Lipídica
- Teoria do Mesênquima
- Teoria Mutagénica
- Hipótese da Resposta à Injúria.
  - Factor de crescimento derivado das plaquetas (PDGF)
  - Células endoteliais
  - Células musculares lisas
  - Macrófagos
  - $\beta$ -VLDL

### 2 - Factores de risco de aterosclerose

Hipertensão

Abuso do tabaco

Diabetes mellitus

Hipercolesterolemia

Alterações nas concentrações das lipoproteínas séricas

Variações nos níveis séricos das apolipoproteínas A-I e B

Alterações nas concentrações séricas dos triglicéridos

Consumo de álcool

Obesidade

Hiperuremia

Uso de contraceptivos orais

Concentrações aumentadas de fibrinogénio

"Stress" do meio ambiente

Influência do sexo

Número elevado de glóbulos brancos

Medidas profiláticas para diminuição da incidência de doenças cárdio-vasculares

### 3 - Lípidos do sangue

Lipoproteínas

Quilomicras

Lipoproteínas de muito baixa densidade

Lipoproteínas de baixa densidade

Lipoproteínas de alta densidade

Lipoproteínas de densidade intermédia

[Lp (a)] - lipoproteína (a)

Funções das apolipoproteínas no plasma

Apolipoproteínas

Metabolismo das lipoproteínas

### 4 - Triglicéridos

Metabolismo dos triglicéridos

Diferenças estruturais e metabólicas entre as lipoproteínas de muito baixa densidade, lipoproteínas de baixa densidade e lipoproteínas de alta densidade de indivíduos normais e de indivíduos com hipertrigliceridemia.

Influência dos triglicéridos no desenvolvimento de doença cardiovascular.

Hiperlipoproteinemias:

Tipo I

Tipo II A e tipo II B

Tipo III

Tipo IV

Tipo V

Hiperalfalipoproteinemia

Hipolipoproteinemias:

A betalipoproteinemia

Hipobetalipoproteinemia

Alfalipoproteinemia

Hipoalfalipoproteinemia

Deficiência familiar de lecitina-colesterol-acetil-transferase

Doença de olho de peixe

Hiperapobetalipoproteinemia

Fenotipos lipoproteicos: classificação de Frederickson.

## 12- Terapêutica medicamentosa hipolipémica

Agentes farmacológicos:

Sequestradores dos ácidos biliares: colestiramida e colestipol. Estrutura química. Mecanismo de acção. Acção sobre os lípidos e lipoproteínas séricas. Efeitos colaterais.

Neomicina. Estrutura química. Mecanismo de acção. Dose diária. Efeitos colaterais. Efeito sobre os lípidos e lipoproteínas séricas.

Acido nicotínico. Estrutura química. Mecanismo de acção. Dose diária. Efeitos colaterais, efeitos sobre os lípidos e lipoproteínas séricas.

Probucol. Estrutura química. Mecanismo de acção. Dose recomendada. Efeitos colaterais. Efeito sobre os lípidos e lipoproteínas séricas.

Derivados do ácido fibríco. Estrutura química do clofibrato, genfibrozil, bezafibrato, fenofibrato. Mecanismo de acção dos fibratos. Efeitos dos fibratos sobre os lípidos e lipoproteínas séricas. Efeitos colaterais dos fibratos.

Oleos de peixe. Efeitos sobre os lípidos e lipoproteínas séricas do ácido eicosapentanoico e do ácido docosahecanoico.

Inibidores da HMG Co A redutase: mevastatina e lovostatina. Estrutura química. Mecanismo de acção. Efeitos sobre os lípidos e lipoproteínas séricas. Efeitos colaterais.

Ácido p-aminosalicílico e esteróides sintéticos

Administração associada de drogas.

## B - MATERIAL E MÉTODOS

### 13 - Bioquímica clínica usada no prognóstico, diagnóstico e controlo da aterosclerose

Padronização das variações pré-analíticas.

Aplicação de um completo programa de controlo de qualidade.

Separação das diferentes fracções lipoproteicas:

Ultracentrifugação,

Método de rotina (Kit comercial)

Ultracentrifugação zonal

Electroforese

Técnicas para o doseamento das apolipoproteínas.

Factores que influenciam o doseamento correcto das apolipoproteínas

Hipertrigliceridemias

Doenças que podem induzir a subida da concentração dos triglicéridos séricos.

## **5 - Colesterol**

Concentrações séricas de colesterol e aterosclerose

Influência das relações entre as concentrações de colesterol total, lipoproteínas de baixa densidade e lipoproteínas de alta densidade no aparecimento da aterosclerose.

Hipercolesterolemia familiar

Factores que influenciam as concentrações de colesterol

Regimes dietéticos

Exercício físico

Ingestão de álcool

Tabagismo

Uso de contraceptivos orais e estrogénios pós-menopausa

Deficiências hormonais

Metodologia para a determinação do colesterol sérico

Valores de risco da concentração de colesterol

## **6 - Lipoproteínas de baixa densidade (LDL)**

Estrutura

Receptores

Defeitos genéticos nos receptores

Heterogeneidade das partículas

Sub-frações e a sua associação com a aterosclerose

## **7 - Lipoproteínas de alta densidade (HDL)**

Relação entre as concentrações de HDL e o aparecimento de aterosclerose

Transporte inverso do colesterol

Sub-frações

Metabolismo

## **8 - Apolipoproteína A-I**

Apolipoproteínas como marcadores das partículas lipoproteicas

Relação entre as variações na concentração de apo A-I e o aparecimento de DCV.

Estrutura e funções da apo A-I

Factores que influenciam a concentração da apo A-I

## **9 - Apolipoproteínas B**

Apolipoproteínas B100 e B48

Metabolismo das apolipoproteínas

Alterações no metabolismo das apolipoproteínas B e respectiva corresponsabilidade por alguns estados patológicos.

## **10 - Alterações no metabolismo das lipoproteínas associadas com modificações nas concentrações das apolipoproteínas**

Ausência de apolipoproteínas

Deficiência em apolipoproteínas

Alterações verificadas nas concentrações das apolipoproteínas nas hiperlipoproteinemias primárias

Alterações verificadas nas concentrações das apolipoproteínas nas hiperlipoproteinemias secundárias

Citosterolemia

## **11 - Alterações lipoproteicas**

Determinações efectuadas neste estudo:

Doseamento enzimático do colesterol

Doseamento enzimático dos triglicéridos

HDLc, LDLc e VLDLc, por ultracentrifugação (método recomendado pela  
"Lipid Research Chimics,USA")

HDLc, LDLc e VLDLc por electroforese

Apolipoproteína A-I e apolipoproteína B, por electro-imunoensaio

**14 - Análise dos resultados**

**15 - Conclusões**

**16 - Bibliografia**

## ABREVIATURAS:

ACAT	Colesterol acyl transferase
AGL	Ácidos gordos livres
apoLp	Apolipoproteína
$\beta$ -VLDL	Beta VLDL
CETP	Proteína trocadora de ésteres de colesterol
CT	Colesterol total
CV	Coeficiente de variação
DAC	Doença arterial coronária
DCC	Doença coronária cardíaca
DCV	Doença cardiovascular
DIC	Doença isquémica cardíaca
EC	Ésteres de colesterol
EM	Enfarte de miocárdio
HDL	High density lipoproteins Lipoproteína de alta densidade
HDLc	High density lipoproteins cholesterol Colesterol lipoproteína de alta densidade
HF	Hipercolesterolemia familiar
HMGCoA	3-hidroxi-3-metilglutaril CoA redutase
HTG	Hipertrigliceridemia
LCAT	Lecitina-colesterol-acid-transferase
LDL	Low density lipoprotein Lipoproteína de baixa densidade
LDLc	Low density lipoprotein cholesterol Colesterol de lipoproteína de baixa densidade
LH	Lipase hepática
Lp	Lipoproteína
Lp(a)	Lipoproteína (a)
LPL	Lipoproteína lipase
Lps	Lipoproteínas
PDGF	Platelet derived growth-factor Factor de crescimento derivado das plaquetas (FCDP)
PM	Peso molecular
TG	Triglicéridos
VLDL	Very low density lipoproteins Lipoproteína de muito baixa densidade

## A. INTRODUÇÃO

As lesões ateroscleróticas foram observadas nos seres humanos há muitos séculos, e conhecidas pelos patologistas europeus a partir do séc. XIX.

O termo genérico "arterosclerose" deve-se a Lobstein, em 1829, e designava a danificação e calcificação das artérias.

Em 1904, Marchand chamou aterosclerose ao tipo diferente de arterosclerose caracterizada pela deposição lipídica.

Em 1772 a angina de peito foi descrita por Haberdern e o enfarte de miocárdio por Weigart em 1880.

A incidência de doenças coronárias cardíacas (DCC) e aterosclerose aumentou severamente, nos países desenvolvidos, na primeira metade do séc. XX, tomando proporções epidêmicas na metade do séc. [1].

Ignatowski alimentou coelhos com carne, ovos e leite e pela primeira vez conseguiu induzir uma aterosclerose experimental semelhante e verificada nos humanos.

Entre 1910 e 1914, Stukkew, Wasselkin, Anitschkow, Chaladow, Waker e Huek, induziram hiperlipidemia e lesões ateroscleróticas com uma alimentação rica em colesterol [32]. Segundo Kuller e col. [2] é um exemplo duma doença epidêmica.

As epidemias são medidas pela sua patogeneidade e pela sua virulência. A patogeneidade é dada pela razão entre o número de pessoas com a doença e o número de pessoas expostas à doença. A virulência será a severidade da doença. Em doenças crônicas, a patogeneidade e a virulência são referidas na sua incidência, morbidade e mortalidade.

Na aterosclerose:

A susceptibilidade das populações considera-se expressa pela concentração do colesterol total (CT) e de colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDLc - low density lipoprotein cholesterol), que dependerão duma dieta aterogénica ou da influência genética sobre o metabolismo das LDL (low density lipoprotein - lipoproteína de baixa densidade) .

A patogeneidade é dada pela incidência da doença, aterosclerose, na população. A virulência, pelos acontecimentos posteriores, como enfarte de miocárdio (EM) e morte súbita.

As taxas de mortalidade por doença cardio vascular (DCV) começaram a diminuir nos Estados Unidos em 1968 [3]; na Finlândia por volta de 1970, continuando ainda essa tendência [4]; na Noruega a taxa de mortalidade, verificada em homens, com idades entre 35-44 anos diminuiu cerca de 25% nos períodos entre 1966-70 e 1976-80. Em indivíduos mais velhos observou-se um declínio por DCV, muito menos acentuado [5].

Contrariamente, na Suíça verificou-se um aumento de cerca de 30%, na mortalidade por DCV, em homens com idades entre 55-59 anos no período entre 1968-1980 [6]. Em Espanha, onde as taxas de mortalidade por DCV são relativamente baixas, no período entre 1968-1977 verificou-se um aumento de mortalidade de 62% para os homens e 42% para as mulheres [7].

Talvez estas mudanças se devam, nos países onde se verificou descida da mortalidade por DCV, a um esforço preventivo capaz dos serviços nacionais de saúde, melhores hábitos dietéticos, alteração nos factores de risco, com a respectiva descida dos níveis de colesterol serico, pressão sanguínea, consumo de tabaco, aumento de actividade física, melhoria no tratamento dos DCV [8], por regimes diatéticos ou por administração de medicação apropriada.

Em estudos em indivíduos que morreram por doença não aterosclerótica e por acidentes de viação, podemos encontrar lesões ateroscleróticas já aos 10 anos, nas artérias coronárias aos 20, aparecendo aos 30-40 anos nas artérias cerebrais; as manifestações clínicas de doença cardíaca coronária e de doença vascular periférica surgem na zona dos 50 anos (enfarte, gangrena, aneurismo), verificando-se as embolias cerebrais na zona dos 60 ou mais tarde [9].

Apesar de aparecerem em idades diferentes, nos diferentes vasos, e de possuir, também, velocidade de progressão muito diferente de indivíduo para indivíduo, a aterosclerose parece formar-se por um processo semelhante em todos eles, que passa pela formação da camada lipídica, fibrosa, fibro-lipídica e calcária. O aumento da placa fibrolipídica origina estenose, ulceração, hemorragia.

A ulceração da placa fibrosa leva a libertação do conteúdo das placas e ao embolismo do ateroma, a hemorragia dentro das placas produz um rápido aumento de volume da placa e conseqüente oclusão e enfarte. [9].

Trombose é a complicação mais comum, consiste na obstrução rápida do lumen duma artéria coronária originando EM fatal ou não fatal.

Porém, a trombose nem sempre causa a morte, ou mesmo EM, se o indivíduo sobrevive, o trombo é reorganizado por tecido granuloso e pode ser recanalizado.

Um enorme número de estudos epidemiológicos e clínicos em animais, em células de cultura, "in vitro", foram realizadas para tentar identificar a influência dos factores externos no desenvolvimento de aterosclerose, assim como os mecanismos celulares e modeladores envolvidos nos processos ateroscleróticos. Também se tem realizado esforços para tentar determinar as características genéticas desconhecidas que tornam um indivíduo susceptível a aterosclerose quando sujeito a alguns factores do meio ambiente, enquanto outros são resistentes [1].

Sabemos, sem dúvida alguma que valores elevados de colesterol, de LDLc estão directamente associados ao risco de DCV e que as concentrações de HDLc (high density lipoproteins cholesterol - colesterol da lipoproteína de alta densidade), estão inversamente associadas [10]; assim como trabalhos mais recentes sugerem que variações nas concentrações das sub espécies quer das HDL (high density lipoproteins - lipoproteínas de alta densidade), quer das LDL podem estar relacionadas com DCV [11].

Quanto à influência da concentração plasmática dos triglicéridos (TG) como factores de risco nas doenças ateroscleróticas, as opiniões são divergentes. Entre outros podemos citar os trabalhos de Hulley e col. [12] que concluíram em 1980 que a hipertrigliceridemia não era um factor de risco independente, ao passo que os trabalhos de Zilversmit [13] afirmam que as quilomicras-"remnants", uma das lipoproteínas ricas em TG, eram extremamente aterogénicas. No entanto, mais estudos terão que ser realizados para se chegar a conclusões aceites por todos.

Outra característica das lipoproteínas que pode afectar a sua aterogeneidade é a composição das suas apolipoproteínas. A concentração da apolipoproteína B, a principal apolipoproteína das LDL e VLDL (very low density lipoproteins, - lipoproteína de muito baixa densidade), está positivamente associada às doenças ateroscleróticas, ao passo que as concentrações da apolipoproteína A-I, a apolipoproteína das HDL está negativamente associada com essas doenças [14].

A lipoproteína [a] - que é uma lipoproteína associada a uma variante das LDL, está positivamente associada a DCV.

O estudo das diferentes formas de polimorfismo encontradas nas apolipoproteínas, por técnicas imunológicas e de genética molecular, tornou-se promissora nos seus resultados, uma vez que se verificou associação entre algumas formas de poliformismo e aterosclerose.

Essas diferentes formas de poliformismo podem exercer o seu efeito sobre a concentração das lipoproteínas no plasma, ter um efeito directo sobre a parede arterial, ou ter uma acção sobre ambas.

Sabemos que o LDL nativo não é tomado pelos macrófagos e células musculares lisas em quantidade suficiente, a ponto de causar uma acumulação substancial de lípidos intracelulares. No entanto os macrófagos quando expostos a LDL acetilado, beta VLDL, ou partículas extraídas de lesões ateroscleróticas humanas, acumulam grandes quantidades de esteres de colesterol. O receptor nos macrófagos responsável por esta tomada é chamado receptor "scavenger", para os distinguir dos receptores normais das LDL.

É totalmente aceite o conceito de que as LDL, modificadas pela peroxidação dos radicais livres e degradação dos fosfolípidos pela fospolipase, por contacto com as células endoteliais são degradadas mais lentamente do que as LDL nativas pelas células musculares lisas e pelos fibroblastos, sendo apanhadas pelos macrófagos via "scavenger", podendo a oxidação das LDL ser um passo crítico no início da aterosclerose [15].

Os estudos de Ramsdale e col. [16] confirmam, por arteriografia coronária, em indivíduos fumadores e não fumadores os efeitos nefastos do consumo do tabaco; verificaram também que o número total de cigarros fumados tinha correlação com a severidade da doença encontrada nas artérias coronárias, assim como com o número de artérias coronárias num estado de estenose apreciável.

Nos indivíduos estudados, não se verificou uma regressão evidente, nos ateromas coronários, dos fumadores que pararam de fumar, o que leva a aceitar que a redução em EM e morte verificada nos ex-fumadores poderá ter como causa uma diminuição na concentração das catecolaminas, concentrações mais baixas de carboxi-hemoglobina no sangue, redução de aderência plaquetária ou redução de tendência para arritmias ventriculares. Podem ainda verificar-se modificações no número de leucócitos, que está aumentado nos fumadores, ou na concentração de fibrinogénio, que também está aumentado nos fumadores. Sabemos que concentrações aumentadas de fibrinogénio aumentam a predisposição para a trombose [17].

A hipertensão aumenta o risco de aterosclerose, fazendo-se sentir mais o seu efeito ao nível das artérias cerebrais, desconhecendo-se, ainda, o mecanismo envolvido nos efeitos da hipertensão sobre a aterosclerose.

Sabemos que existe muito maior risco para DCV no homem do que na mulher de raça branca; no entanto o motivo dessa diferença ainda não está esclarecida. A diferença verificada entre dois sexos é atenuada em populações de outras raças e em populações de baixo risco. Pensou-se que os estrogénios seriam um factor protector contra a aterosclerose, porém, a sua administração a homens em vez de diminuir a incidência de doenças coronárias, aumentava o aparecimento da doença.

As células musculares lisas das artérias, predominantemente musculares ou predominantemente elásticas, possuem receptores específicos para os androgénios e estrogénios, podendo as hormonas sexuais afectar directamente a parede arterial. O aumento de risco de EM em mulheres que tomam contraceptivos orais, parece resultar mais dum aumento de tendência para a trombose do que duma aterogénese acelerada [1].

Dos resultados de J.R. Crouse III [10], podemos concluir que os valores de LDLc são igualmente perigosos para ambos os sexos. Homens e mulheres com hipercolesterolemia familiar homozigótica, tem igualmente aumentado o risco de DCV. No entanto, mulheres com hipercolesterolemia familiar heterozigótica tem um risco de DCV inferior ao dos homens com a mesma patologia, o que talvez se deva a valores mais elevados de HDLc nas mulheres. De vários estudos realizados poder-se-á concluir que o HDLc se relaciona inversamente ao risco de DCV no homem e na mulher; no entanto a relação LDLc e DCV é menos consistente e menos evidente nas mulheres.

Não nos podemos esquecer do crescente interesse do estudo de alterações nas concentrações de enzimas envolvidas no metabolismo lipídico: lipoproteína lipase (LPL) e lipase hepática (LH).

Um grande número de trabalhos sobre os componentes celulares das lesões ateroscleróticas foram realizadas no últimos anos. Entre os mais importantes podemos citar os trabalhos de Ross [18]. Visto o endotélio ser uma barreira entre o sangue circulante e a íntima das artérias, Ross põe a hipótese de que um defeito, ou função deficiente do endotélio inicie a aterogénese.

No entanto, segundo McGill [1] a presença da lesão ou "Injury" do endotélio só está demonstrada em lesões avançadas, podendo ser responsável pela localização do trombo nas placas formadas. Pode aceitar-se que um funcionamento anormal do endotélio poderá predispor a uma excessiva infiltração das lipoproteínas do plasma na íntima, o que originaria a acumulação lipídica. O endotélio também pode modificar as lipoproteínas sendo estas lipoproteínas modificadas tratadas de modo diferente pelos macrófagos.

As células musculares lisas são predominantes na parede arterial, têm a capacidade de se contraírem, sintetizam elastina e colagénio, não iniciam a aterosclerose, mas participam nas fases posteriores, acumulando lípidos e proliferando durante a progressão da lesão, principalmente na formação da placa fibrosa.

Os macrófagos também desempenham papel fundamental na aterosclerose. Os macrófagos quando acumulam lípidos designam-se por "células foam". As "células foam", aparecem em idades muito novas, tendo sido já encontradas em crianças com 5 anos e tornam-se mais numerosas à medida que os anos vão passando. Os macrófagos são muito mais numerosos no caso de existirem "células foam" na íntima [19].

A hipótese mais aceite é que as lipoproteínas que têm na sua constituição apolipoproteína B (lipoproteínas ricas em TG, LDL nativo ou LDL modificado) infiltram-se na íntima e são ingeridos pelos macrófagos, a continuação da acumulação lipídica possivelmente origina a formação de estrias lipídicas visíveis, que por acumulação lipídica posterior e proliferação levam à formação da placa fibrosa.

Não é ainda totalmente conhecido o papel das plaquetas no princípio da aterosclerose, no entanto as plaquetas desempenham papel activo na hemostase e na trombose [18].

Os indicadores de risco variam de país para país. Nos trabalhos de Kannel e col. [102] os valores de HDLc eram melhores indicadores de futuro risco de DCV do que os valores de LDLc isolado, sendo a razão LDLc/HDLc a que melhor permitia prognosticar DCV nos homens seguida dos dados fornecidos pela razão colesterol total/HDLc. Nas mulheres o HDLc parece ser tão bom indicador de futuro risco como as razões colesterol total/HDLc. e LDLc/HDLc [102].

Nos E.U.A. verificou-se que as concentrações de colesterol total e HDLc parecem possuir igual capacidade de prognóstico de risco para os homens e para as mulheres. Concentrações elevadas de LDLc são fortes indicadores de risco para os homens não parecendo ser para as mulheres [113]. "The Framingham heart study" e os estudos "trombo" concluíram que as alterações nas concentrações de HDLc constituíam o maior factor de risco. Os estudos realizados por Assman e col. [143] na República Federal da Alemanha mostraram que os valores de LDLc eram os principais indicadores de risco em indivíduos jovens do sexo masculino [143]. Avogaro e Reisen [154] afirmaram que a parte proteica das lipoproteínas é mais discriminatória entre indivíduos com aterosclerose e indivíduos saudáveis, do que as simples determinações lipídicas.

De tudo o que se referiu, podemos concluir que, para ajudar a um bom diagnóstico é necessário que as concentrações de colesterol, HDLc, LDLc, apolipoproteína A-I, apolipoproteína B estejam correctamente determinadas.

Sabemos, por outro lado, que os diferentes factores de risco não exercem o mesmo efeito, sobre diferentes populações. Quais são os verdadeiros factores de risco sobre a população estudada ?

Qual o resultado analítico que mais cedo surge assinalando um estado de risco? Ou: qual o resultado analítico que fornece dados mais discriminatórios entre indivíduos saudáveis e indivíduos em risco?

Qual a metodologia que nos fornece dados mais exactos e precisos? Quais os verdadeiros parâmetros de referência da População do Norte de Portugal?

Poderemos aceitar indiscriminadamente os valores de referência fornecidos na literatura ?

Foi na tentativa de responder a estas perguntas, que realizei este trabalho.

## 1 - Citogénese das lesões de aterosclerose

A Organização Mundial de Saúde (OMS) (1957) definiu "Aterosclerose" como: "Uma associação em proporções variadas de modificações na íntima das artérias, consistindo numa acumulação local de lípidos, de complexos glucídicos, de sangue e de produtos de origem sanguínea, acompanhados pela formação de tecido fibroso e de depósitos calcários. Sendo tudo acompanhado por modificações da média".

A parede arterial normal é constituída por um anel de tecido conjuntivo de calibre e estrutura variável conforme se trate de artérias predominantemente elásticas, como a aorta ou artérias predominantemente musculares, como as coronárias. A constituição da parede arterial normal está esquematizada muito resumidamente no Quadro 1.

### Topografia das lesões provocadas por arterosclerose

As lesões de arterosclerose desenvolvem-se com predilecção em certos pontos do sistema vascular onde intervem um conjunto importante de factores hemodinâmicos, em especial nas zonas de turbulência, e de grande variação da pressão arterial. Encontra-se o seu efeito principal :

- ao nível dos segmentos próximos das artérias musculares nascendo directamente da aorta

- ao nível da bifurcação arterial
- ao nível das curvas arteriais
- no sistema carotidiano e vertebral
- nas artérias ilíacas e femurais
- nas artérias coronárias
- nas zonas renais e mesentéricas.

As artérias dos membros superiores, por razões desconhecidas, não sofrem os efeitos da arterosclerose.

A arterosclerose pode ser considerada como uma forma especial de arteriosclerose com deposição patogénica significativa de lípidos na parede arterial. Daqui resulta que com poucas excepções o maior número de formas de arteriosclerose envolve degeneração gorda das paredes arteriais. Daí que os termos "arteriosclerose" e "aterosclerose" podem na maior parte dos casos ser usados sinonimamente.

A deposição das placas de arterosclerose passa por quatro estados, esquematizados no Quadro 2.

Camada lipídica - forma-se na íntima e na média das artérias afectadas, verificando-se depósitos de lípidos nas células lisas nos espaços intersticiais e nos macrófagos . Os depósitos de lípidos aparecem como estrias na superfície da íntima. O oleato de colesterol é o principal lípido que constitui esta camada.

As artérias dos adultos apresentam deformações na íntima das artérias, constituído por um núcleo principal de linoleato de colesterol, coberto por células musculares lisas e tecido conjuntivo que se designa por placa fibrosa.

Embora Earl Benditt [20] sugira que a placa fibrosa se forma por um processo independente da camada lipídica, isto é contrariado pela verificação de que muitas lesões nas artérias dos indivíduos novos têm características histológicas e químicas intermediárias entre as estrias lipídicas e a placa fibrosa [21], também se

<b>Íntima</b>	
Endotélio duplo	
Camada subendotelial elástica interna	<ul style="list-style-type: none"> <li>— Fibras colagénias</li> <li>— Fibras elásticas</li> <li>— Fibroblastos</li> <li>— Miócitos — Elastina</li> <li>— Mucopolissacáridos</li> </ul>
Camada elástica interna	
<b>Média</b>	
Fibras musculares lisas	
Fibras elásticas	
Fibras de colagêneo	
Fibras de mucopolissacáridos ácidos	
Fibras de glicoproteínas estruturais	
<b>Adventícia</b>	
Tecido conjuntivo normal	

**Quadro 1.** Constituição da parede arterial normal.

<b>I</b> Camada lipídica; pode aparecer em indivíduos muito novos	Formação de estrias de gordura na íntima, elevações gelatinosas e microtrombócito	Heparina Sulfato de condroitina
<b>II</b> Camada fibrosa; extremamente frequente a partir dos 30 anos	Mucopolissáridos ácidos tanto mais importantes quanto mais nova for a lesão  Células conjuntivas - também numerosas no princípio da evolução.  Fibras de colagénio, tanto mais numerosas e volumosas quanto mais velha for a lesão. Alterações na camada elástica interna.	
<b>III</b> Camada fibrolipídica	Lesão parietal e infiltração lipídica. Constitui a verdadeira placa ateromatosa, aparecendo com a sua formação os sinais clínicos de sofrimento; dá-se ainda a diminuição do débito sanguíneo quando o estreitamento da cavidade arterial é superior a 75%.	
<b>IV</b> Camada calcárea	Indica a idade do processo A calcificação pode verificar-se na totalidade de placa arterosclerótica (aspecto da casca de ovo). ou estar localizada na base da implantação. Continuação do crescimento da camada fibro-lipídica Ulceração. Hemorragia. Formação do trombo.	

**Quadro 2.** Formação da placa aterosclerótica.

verificou que nas artérias coronárias, os locais escolhidos para a deposição da camada lipídica, nas crianças, são os mesmos onde se forma a placa fibrosa no adulto. No entanto, é aceite que se algumas camadas lipídicas dão lugar a placa fibrosa, outras estrias lipídicas provavelmente regridem sem posteriores complicações. Pensa-se que os factores de risco terão maior efeito na progressão das estrias lipídicas na placa fibrosa do que na inicial deposição lipídica na íntima [1].

O crescimento da placa fibrosa, por deposição lipídica nos macrófagos, que passam a designar-se por "células Foam", deposição de substâncias agregantes e plaquetas, vai constituir a placa fibro-lipídica. Embora esta camada fibro-lipídica, seja hoje em dia considerado, como um sinónimo da camada fibrosa. Algumas das placas fibrosas acumularam cálcio no seu centro, porém só a calcificação raramente leva a outras sequelas.

De maior gravidade é o contínuo crescimento da placa fibrosa até produzir estenose da artéria coronária, ulceração na cápsula fibro-lipídica ou hemorragia para o interior da placa fibro-lipídica resultante de pequenos vasos que cresceram na placa fibro-lipídica, podendo todo este processo dar origem a formação do trombo.

Já foi dito que as estrias lipídicas podem ser visualizadas aos 10 anos, as placas fibrosas a partir dos 20, surgindo a complicação das lesões (calcificação, hemorragia, ulceração, trombose entre os 40-50 anos, aparecendo EM, apoplexia, gangrena, aneurisma nas idades posteriores [9].

Também já foi dito e será melhor desenvolvido posteriormente que todo este processo está relacionado com concentrações séricas elevadas de colesterol, de LDLc, VLDLc, apolipoproteína B, e concentrações baixas de HDLc, e apolipoproteína A-I.

No entanto a progressão de aterosclerose dá-se em tempos de formação diferentes; a formação do ateroma pode levar décadas, estando o doente com uma aterosclerose assintomática, podendo a passagem para uma aterosclerose sintomática demorar apenas minutos, surgindo então os sinais clínicos da doença: angina de peito, enfarte de miocárdio, oclusão das artérias periféricas, etc. (Fig.1).

### **Teorias sobre a formação de aterosclerose**

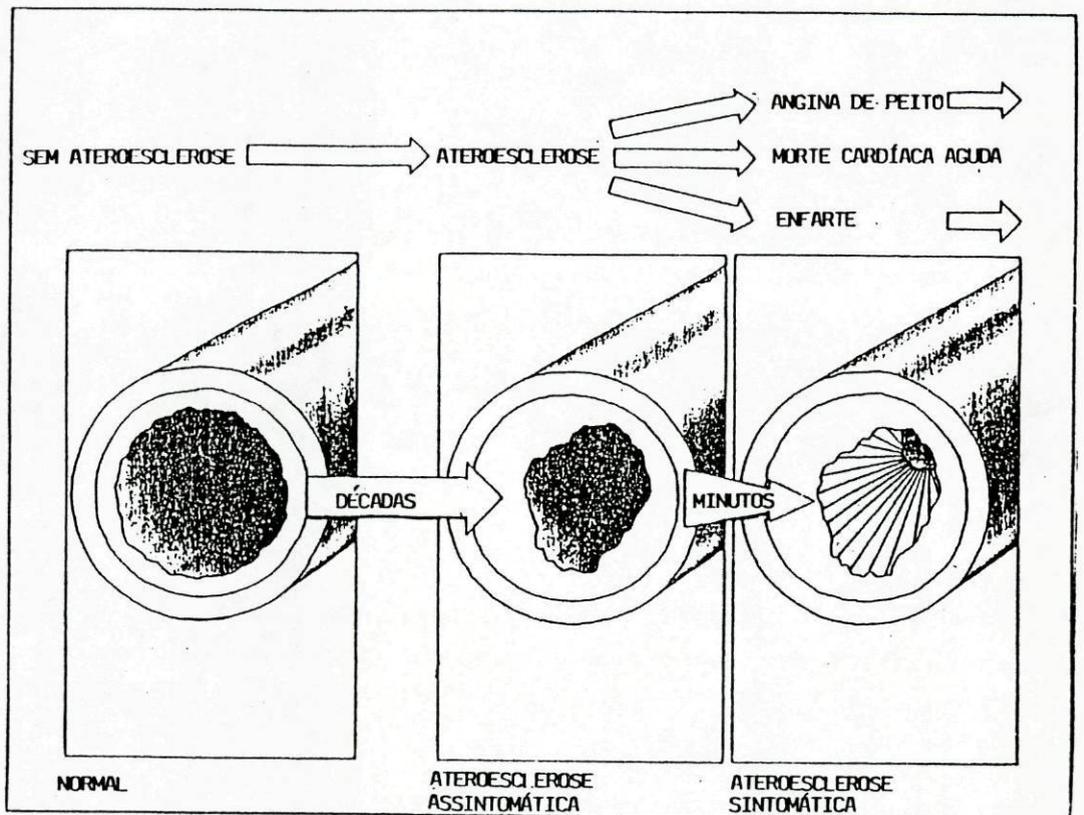
**Teoria lipídica.** Smith e col. [23] ao estudarem a relação entre os valores dos lípidos do soro e a concentração lipoproteica na íntima das artérias, verificaram uma forte correlação destes valores com as concentrações de colesterol no soro.

Sabemos hoje que os lípidos do plasma, TG e principalmente colesterol, e ainda as Lps (lipoproteínas) plasmáticas HDL, LDL e Lp(a), estão envolvidas na complexa fisiopatologia da aterosclerose. Nesta, três processos distintos são observados:

a) Aumento do transporte das Lps do plasma do sangue para a parede arterial.

b) Acumulação intracelular e extracelular de lípidos na parede arterial.

c) Diminuição da saída de lípidos da parede arterial. Alterações patológicas das Lps no soro estão relacionadas com a acumulação de lípidos no ateroma, assunto que será tratado nos capítulos seguintes



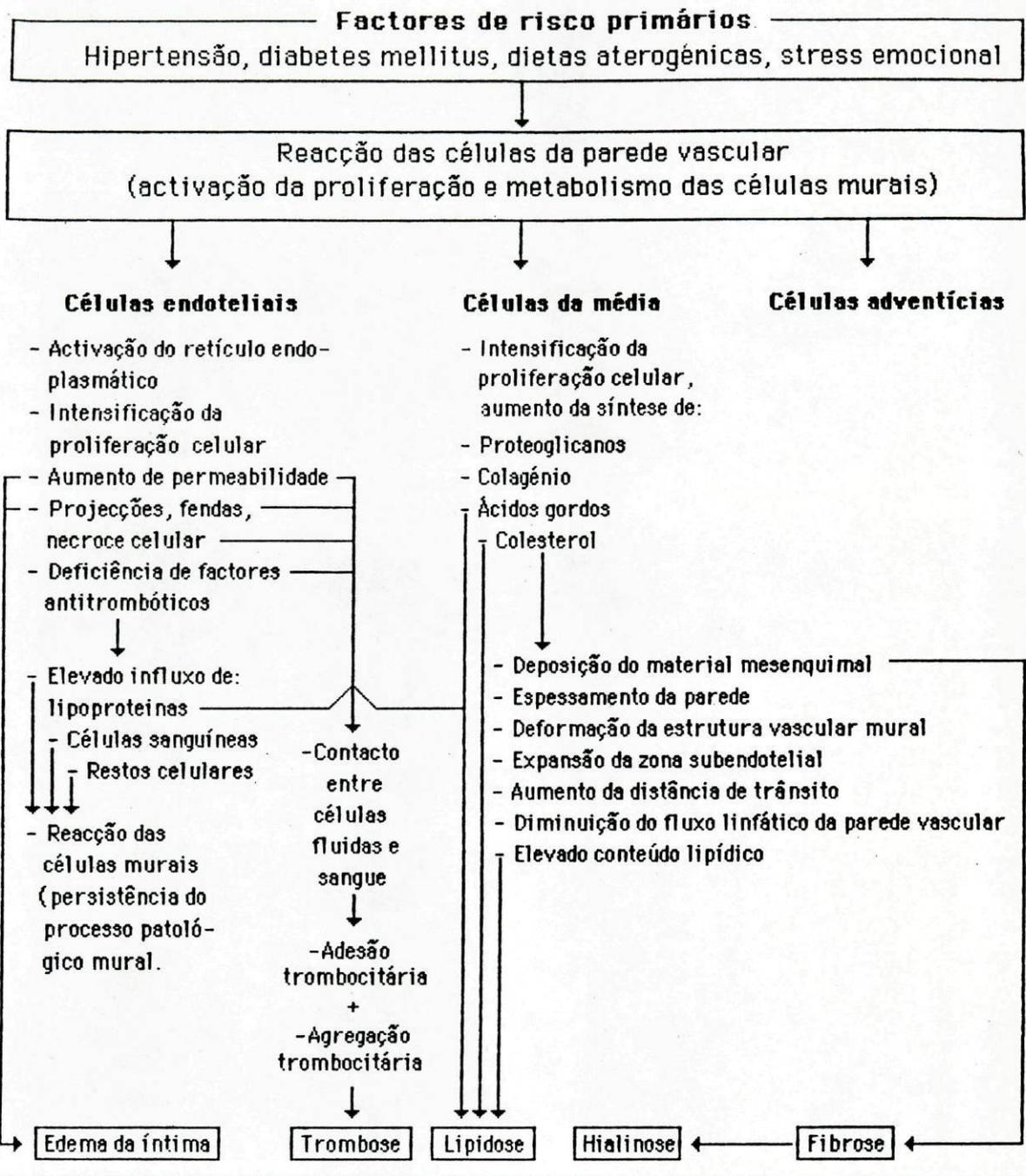
**Figura 1.** Progressão de aterosclerose. A passagem de um vaso de um estado normal à formação de um trombo pode levar décadas (aterosclerose assintomática). A oclusão do vaso com o aparecimento dos sinais clínicos da doença (aterosclerose sintomática) pode dar-se em poucos minutos [22].

**Teoria do Mesênquima.** As células da parede vascular são pontos cruciais do ataque dos "factores de risco". Da reacção das células da parede arterial aos "factores de risco" resultará, "à priori", o desenvolvimento da aterosclerose. Na presença de factores de risco primários, como a hipertensão, diabetes mellitus, dieta aterogénica e "stress" emocional, as células da parede vascular reagirão com activação da sua proliferação e do seu metabolismo. Nas células endoteliais observar-se-á uma activação do retículo endoplasmático; uma intensificação da sua proliferação; um aumento de permeabilidade com formação de projecções citoplasmáticas, fendas e eventualmente necrose celular; observa-se ainda deficiência em factores anti-trombóticos. O aumento de permeabilidade celular e suas consequências poderão ser responsáveis por edema da íntima; esta maior permeabilidade celular, associada a uma deficiência em factores antitrombóticos poderá ser responsável por um maior contacto entre o fluido celular e o sangue, que promoverá a adesão de trombócitos, seguida da sua agregação e, como resultado final a trombose.

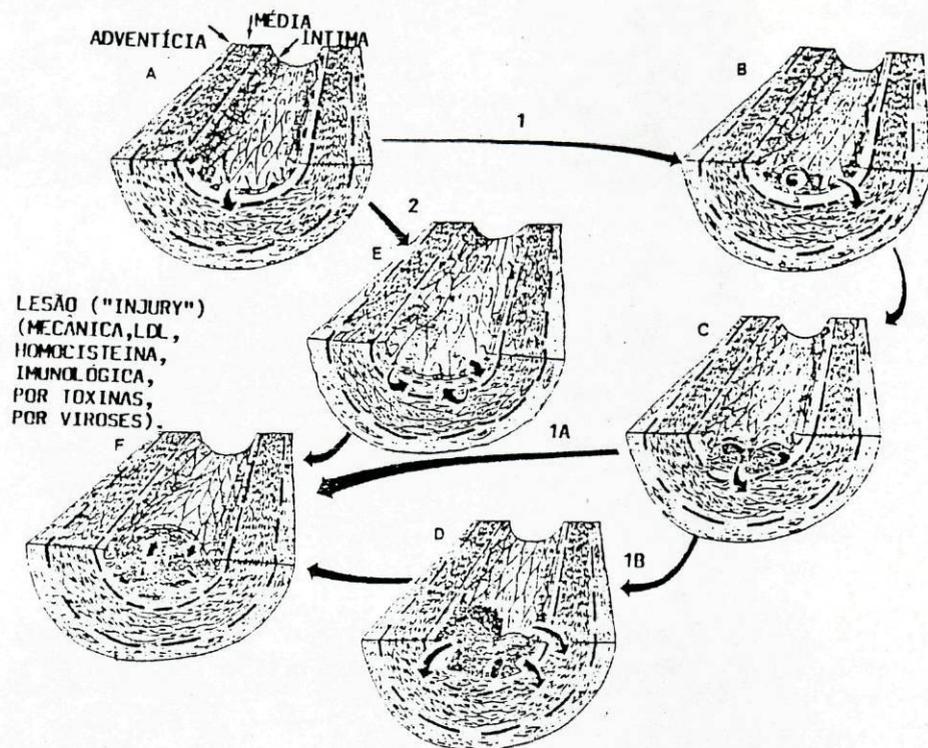
A deficiência de factores anti-trombóticos permite, por outro lado, um maior influxo a esta zona de Lps, células sanguíneas e fragmentos celulares que, em conjunto, serão responsáveis pela reacção das células de parede, isto é, pela persistência de todo este processo patológico. O influxo de Lps naquela zona poderá ainda levar à formação de lipidose. A nível das células da média observa-se também uma proliferação celular intensificada, bem como uma síntese aumentada de proteoglicanos, colagénio, glicoproteínas, ácidos gordos e colesterol. Estes dois últimos podem provocar lipidose. O colesterol, juntamente com a deposição do material mesenquimatoso, origina fibrose, seguida de hialinose. De facto, a síntese de colesterol é acompanhada de um aumento de espessura da parede; da deformação estrutural da parede vascular; da expansão da zona sub endotélio; de um aumento das distâncias de passagem; uma alteração do fluxo de linfa nas paredes vasculares e de um aumento do conteúdo lipídico que, como se viu, pode ser responsável por lipidose. As células adventícias são as únicas que parecem não participar no desenvolvimento da aterosclerose. Esta teoria está esquematizada no Quadro 3.

**Teoria mutagénica (teoria da transformação).** Um ateroma forma-se por proliferação das células musculares lisas. Segundo esta teoria, as células do parênquima aparecem alteradas por efeito de mutantes (vírus, carcinogénicos e radiações) e podem proliferar selectivamente se essas mutações ocorrem sob a influência de factores de risco [24].

**Hipótese da resposta a Injúria ou lesão.** Esta teoria está esquematizada na Figura 2 e pode resumir-se do seguinte modo. A proliferação das lesões de arterosclerose pode seguir duas vias distintas. A via indicada pela seta 1 foi observada experimentalmente em casos de hipercolesterolemia induzida [18]. Nestes estudos constatou-se que a lesão do endotélio (A) pode induzir à secreção de factores de crescimento que parecer ser precedido por um factor inicial constituído pela aderência dos monócitos [25]. O endotélio, com os monócitos aderentes (B), pode continuar a segregar os factores de crescimento. A migração sub-endotelial dos monócitos pode induzir à formação de vestígios de gordura e à libertação de factores de crescimento, como o PDGF (factor de crescimento derivado das plaquetas ou "platelet derived growth factor"). Os vestígios de lípidos podem ser directamente convertidos em placas fibrosas (C→D→F) através da libertação de factores de crescimento dos macrófagos, das células endoteliais ou de ambos. Os macrófagos podem também estimular ou lesar o endotélio superior. Em alguns casos os macrófagos podem perder a sua cobertura endotelial e verificar-se uma adesão das plaquetas, desde que na presença de factores de crescimento que podem ter origem



**Quadro 3.** Resumo da teoria do mesênquima



**Figura 2:** Representação esquemática da teoria da "lesão". Diferentes etapas que constituem a via principal (via 1) e a via alternativa (via 2).

Via 1

A - "lesão" do endotélio, que pode ter origem mecânica, da ação da LDL, da homocisteína, em processos imunológicos, tóxicos ou viróticos. Esta é acompanhada da libertação de factores de crescimento.

B - Adesão de monócitos e eventualmente continuação da libertação de factores de crescimento.

C - Migração sub-endotelial dos monócitos que pode conduzir à formação da camada lipídica. Libertação de PDGF.

(C → F) Via principal - Conversão da camada lipídica à camada fibrosa através da libertação de factores de crescimento originários nos macrófagos, nas células endoteliais ou em ambas.

F - Proliferação de células musculares lisas na própria lesão e libertação de PDGF.

(C → D) Via alternativa - Acontece em alguns casos: os macrófagos perdem a sua cobertura endotelial, o que pode enduzir à adesão de plaquetas na presença de factores de crescimento provenientes destes e ainda dos macrófagos e do endotélio.

Via 2

(A → E) - Nesta via alternativa o endotélio lesado mantém-se intacto. Esta lesão leva a um aumento do "turnover" endotelial que pode ser acompanhado da formação de factores de crescimento por estas células. Daqui poderá resultar a migração de células musculares lisas da média para a íntima. Esta migração é acompanhada pela produção endógena de PDGF pelas células musculares lisas, assim como pela secreção de factores de crescimento pelas células endoteliais lesadas.

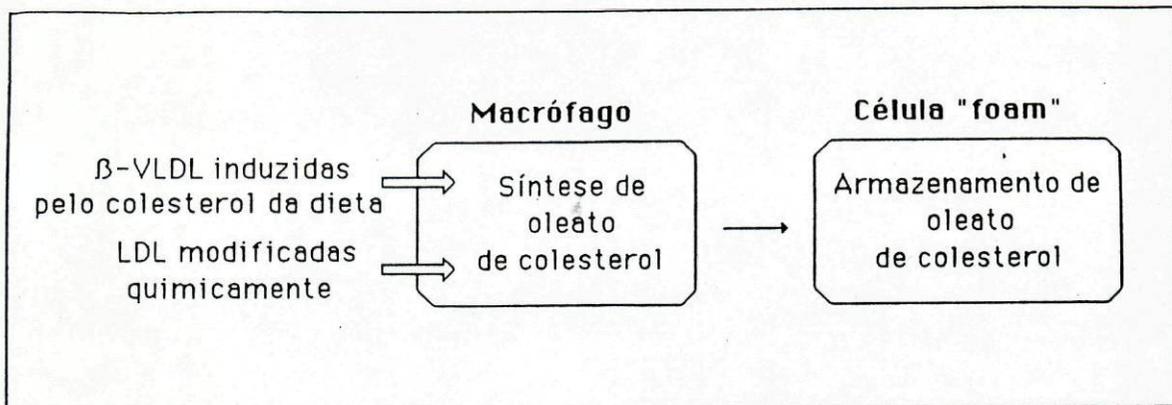
F - Destas interações pode resultar a formação da placa fibrosa e a progressão da lesão.

nas plaquetas, macrófagos e endotélio. Algumas fibras musculares lisas da zona da lesão podem, elas mesmas, formar ou segregar factores de crescimento, como PDGF. Uma via alternativa para o desenvolvimento da arterosclerose está representada pelas modificações (A→E→F). Neste caso o endotélio pode estar lesado mas ficar intacto. Do aumento do "turnover" endotelial pode resultar a formação de factores de crescimento das células endoteliais (A), o que pode estimular a migração das células musculares lisas da média para a íntima, acompanhada pela produção endógena de PDGF pelo músculo liso, assim como da secreção de factores de crescimento das células endoteliais "lesadas" (E). Esta interacção pode levar à formação da placa fibrosa e posterior progressão da lesão. Daqui se vê a grande importância das células endoteliais, das células musculares lisas e dos macrófagos e ainda das suas interacções na citogénese da aterosclerose com as Lps.

PDGF. As plaquetas contêm, além de PDGF, outros factores de crescimento epidermal, e um factor transformador de crescimento particular que ajuda as células a crescer em suspensão. O PDGF é constituído por 2 cadeias peptídicas ligadas por pontes bissulfureto, de massa entre 27.000 e 31.000 dalton. A heterogenidade característica da molécula de PDGF resulta dos diferentes graus de glicosilação, pois contém resíduos de açúcares. A redução da molécula rompe as ligações bissulfureto originando duas proteínas, de massa entre 14.000 e 17.000 dalton, biologicamente inactivas. As células, depois de estarem em contacto com PDGF, sofrem uma série de transformações metabólicas, que se verificam muito rapidamente, como aumento do "turnover" dos fosfolípidos com a libertação de ácido araquidónico e a formação de derivados das prostaglandinas. As proteínas da membrana celular e do citoplasma que contêm tirosina são fosforiladas após a estimulação do PDGF, podendo isto ser particularmente importante desde que a tirosina induza a fosforilação, processo que se sabe estar relacionado com a mitogénese. As células expostas a PDGF formam rapidamente "pools" intracelulares de diglicéridos e libertam monoglicéridos e ácido araquidónico livre no meio de cultura. Os diglicéridos servem como substrato para a cálcio-cínase, do que resulta uma elevada mobilização do cálcio na célula.

A síntese da ciclooxygenase está também aumentada nestas células devido à acção do PDGF, levando ao aparecimento de prostaciclina na média. As modificações induzidas pelo PDGF culminam na síntese do DNA. Sabemos que o PDGF é um agente quimotáctico, com a capacidade de atrair células ao longo dum gradiente de concentração em direcção aos locais de secreção, o que pode ser muito importante para o desenvolvimento das lesões de aterosclerose. O PDGF também induz mudanças estruturais nas células. Entre dez minutos e seis horas de contacto, as células reorganizam os seus filamentos de actina, aumentam a síntese de colesterol e promovem a endocitose das moléculas do meio externo. Um grande número de novos RNAs mensageiros começam a aparecer dentro das células como genes sintonizados. PDGF induz a ligação de LDL aos seus receptores aumentando o número de receptores de LDL expressos na célula. Também estimula a ligação ao receptor da somatomedina-C e da hormona lactogénica das células que contêm receptores para eles.

Os estudos de Russel Ross [25] "in vivo" permitiram demonstrar que migração das células musculares lisas da média para a íntima das artérias e a proliferação, na íntima, das células musculares lisas seguem a lesão e podem ser associadas a uma indução de aderência plaquetária. Se nos animais de experiência se fez previamente trombocitopenia, a proliferação das células musculares da íntima é inibida, parecendo, portanto, que esta resposta proliferativa está dependente das plaquetas. Contudo, até ao momento não podemos associar esta resposta ao PDGF. Tanto quanto se sabe do processo de aterosclerose, sabemos que há várias fontes de PDGF - plaquetas, macrófagos activados e células endoteliais estimuladas. Todas



**Figura 3.** Transformação do macrófago em célula "foam" por deposição de colesterol [22].

elas podem libertar a hormona que reage com as células musculares lisas, causando a sua proliferação e abaixando o novo tecido conjuntivo, para ligar Lps via receptores de alta afinidade, e essencialmente participar nessas alterações que conduzem ao processo de aterosclerose.

Células endoteliais. Se por um lado os defeitos no endotélio podem estar relacionados com a idade, por outro lado a sua indução experimental por dietas ricas em colesterol [26] e por endotoxinas, aponta para a importância da dieta nos defeitos endoteliais. A parede arterial intacta representa uma barreira que permite controlar o transporte de material via estruturas citoplasmáticas especializadas. Partículas de diâmetro inferior a 750 Å. de diâmetro podem ser transportadas do lúmen vascular para a íntima pelas vesículas. No entanto, nas regiões com defeitos endoteliais, partículas com maior diâmetro como as VLDL e quilomicras, são capazes de penetrar nas paredes vasculares, verificando-se, no entanto, uma agregação de trombócitos, os quais libertam factores que provocam a formação de fibras e a proliferação de células musculares lisas.

Células musculares lisas. Estas células são predominantes na parede arterial e acumulam lípidos nos estados iniciais de aterosclerose. Proliferam nos estados posteriores da lesão, particularmente na formação da placa fibrosa. Além da contracção, as células musculares lisas realizam outras funções como síntese de colagénio, elastina e peptidoglicano. As células musculares lisas participam no processo de aterosclerose, porém não o iniciam [25].

Macrófagos. Os macrófagos, tal como os leucócitos e as bactérias, são capazes, em certas condições patológicas e fisiológicas, de absorver e degradar quantidades consideráveis das Lps do plasma. Numerosos estudos morfológicos e bioquímicos demonstraram que os macrófagos desempenham um papel importante na aterogénese [27,28]. Parte do colesterol das Lps do plasma é esterificado em ésteres de colesterol ou passa para o fluido extracelular ou é depositado nas células. As LDL nativas não são absorvidas pelos macrófagos ou pelas células musculares lisas em quantidades suficientes para causar uma acumulação substancial de lípidos intracelulares. Contudo os macrófagos acumulam grandes quantidades de ésteres de colesterol quando expostos a "LDL acetiladas", a "beta-VLDL" (b-VLDL), ou a partículas lipídicas extraídas das lesões ateroscleróticas. Os receptores dos macrófagos responsáveis pela tomada destas partículas são chamados "scavenger receptors" para se distinguirem dos receptores LDL. As experiências realizadas por Steinberg e col. desde 1981 sugerem que a oxidação das LDL pode ser um passo decisivo na aterosclerose. A exposição ao ar de culturas de células endoteliais incrementa-lhes a densidade, mobilidade electroforética e a captação de LDL pelos macrófagos. As LDL modificadas pelas células endoteliais são degradadas mais lentamente do que as LDL nativas pelas células musculares lisas e pelos fibroblastos. A alteração nas LDL foi identificada como uma peroxidação lipídica pelos radicais livres e degradação dos fosfolípidos pelas fosfolipases, podendo a mesma alteração ser produzida pelos iões cobre (II) [1].

Numerosos sistemas receptores foram descritos como intermediários na captação específica do colesterol das Lps para o interior da célula, originando um aumento na deposição do colesterol e a formação de "células foam" [29]. A Fig. 3 esquematiza a passagem dum macrófago a célula "foam". A transformação dos macrófagos em células "foam" na aterosclerose pode ser induzida por:

B-VLDL: são Lps consideradas aterogénicas, constituídas por partículas ricas em colesterol, contendo as apoproteínas apo B e apo E que se ligam aos receptores b-VLDL [30].

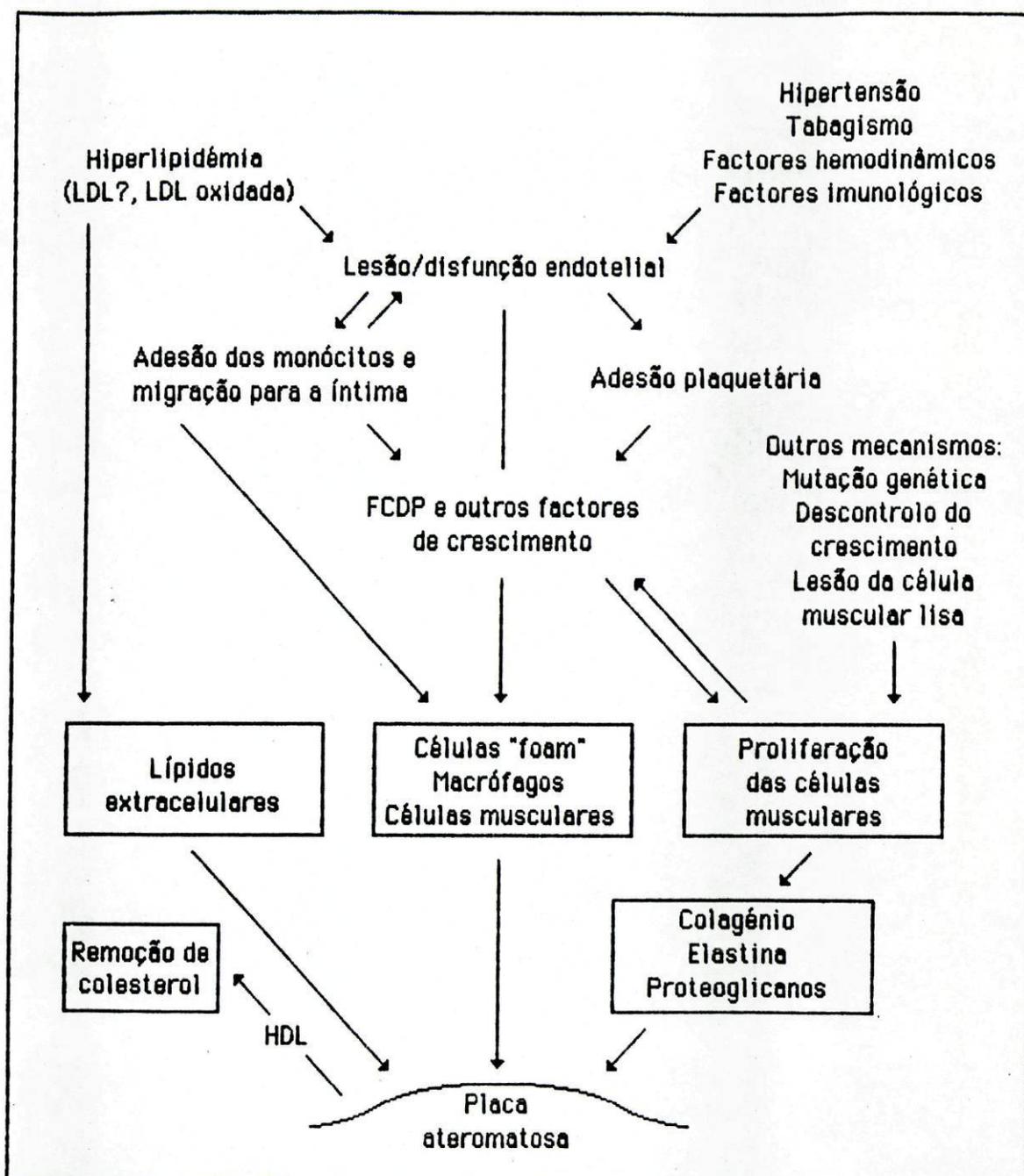


Figura 4. Representação esquemática da possível sequência de acontecimentos na aterosclerose [33]. A formação da placa aterosclerótica pode dever-se a alterações na concentração de lipoproteínas, a acções do meio ambiente ou fisiológicas, ou ainda a outros mecanismos. A quantidade de colesterol na placa depende do balanço entre a deposição pelas causas apontadas e a sua remoção pelas HDL.

LDL modificadas pelo malonildialdeído (malonyldialdehyde-modified LDL ou MDA-LDL): são libertadas pelos trombócitos como produto metabólico do ácido araquidónico na biossíntese das prostaglandinas. Forma-se também, durante a peroxidação dos lípidos, e ainda nas regiões lesadas da íntima dos vasos sanguíneos.

Complexo LDL-sulfato de dextrano: é incorporado nos macrófagos por um processo de endocitose sugerindo que os glicosaminoglicanos do tecido intersticial da parede arterial se podem complexar com as LDL e ser especificamente absorvidos para o interior dos macrófagos, depositando ésteres de colesterol e originando células "foam" [31]

Desempenham papel extremamente importante neste processo as partículas de HDL que foram descritas como aceitadores particularmente efectivos do colesterol nos macrófagos [29]. Concentrações muito baixas de HDL podem levar à acumulação de ésteres de colesterol na célula e portanto à sua morte.

Na Fig. 4 que representa a sequência dos acontecimentos que podem dar origem à aterosclerose, está esquematizado o que até aqui foi descrito; a formação da placa aterosclerótica poderá ser devida:

- a alterações nas concentrações de lipoproteínas (hiperbetalipoproteinemia), LDL modificado, b-VLDL).

- a acções do meio ambiente (tabagismo, alimentação com excesso de gorduras) e fisiológicas (hipertensão) que originam a lesão das células do endotélio, o que vai, por sua vez, induzir a adição dos monócitos e ao aumento da acção dos factores de crescimento das plaquetas (FCDP); isto origina uma proliferação das células musculares lisas, que libertam colagénio, elastina e proteoglicanos, e a consequente formação de células "foam", que por sua vez, constituirão a placa aterosclerótica.

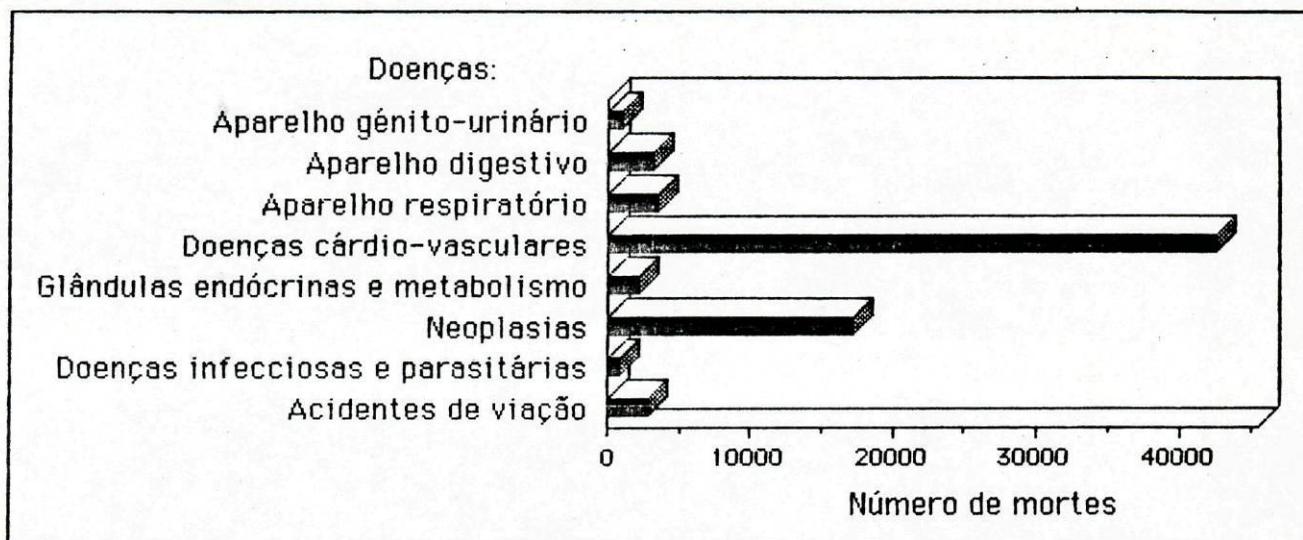
- a outros mecanismos que tenham acção sobre a proliferação das células musculares lisas (mutações genéticas, descontrolo do crescimento, lesão das células musculares lisas).

A disposição de colesterol na placa aterosclerótica estará dependente do influxo e efluxo de colesterol, no qual as partículas de HDL desempenham um papel fundamental.

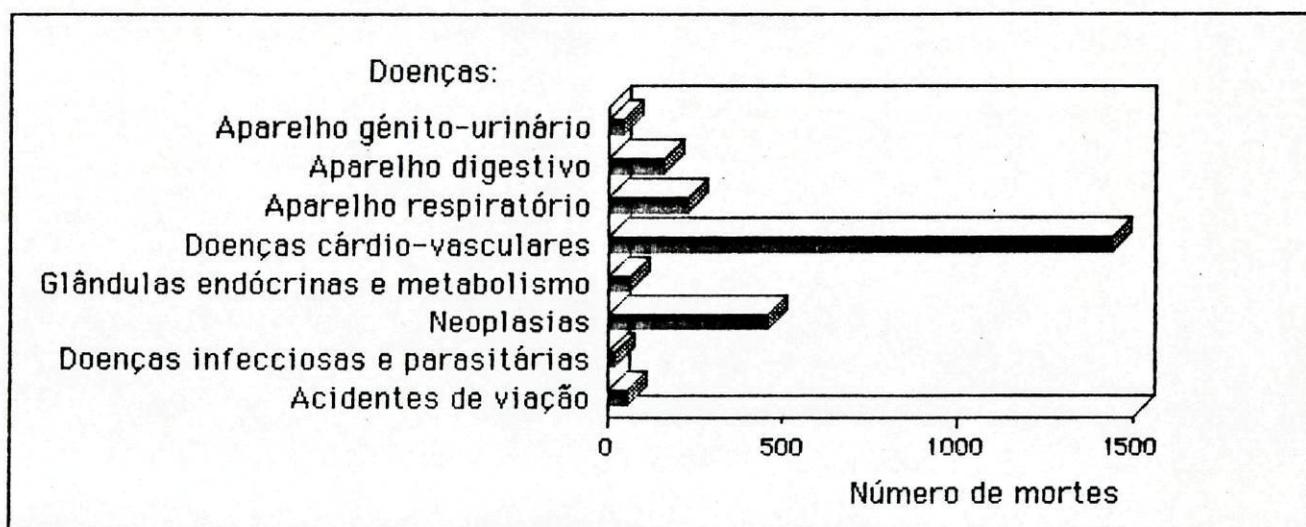
A possível sequência de acontecimentos na aterosclerose está representada esquematicamente na Fig.4 [33]. Nos capítulos respectivos desenvolveremos o anabolismo e catabolismo das diferentes Lps e o seu papel na aterosclerose.

## **2 - Factores de risco de aterosclerose**

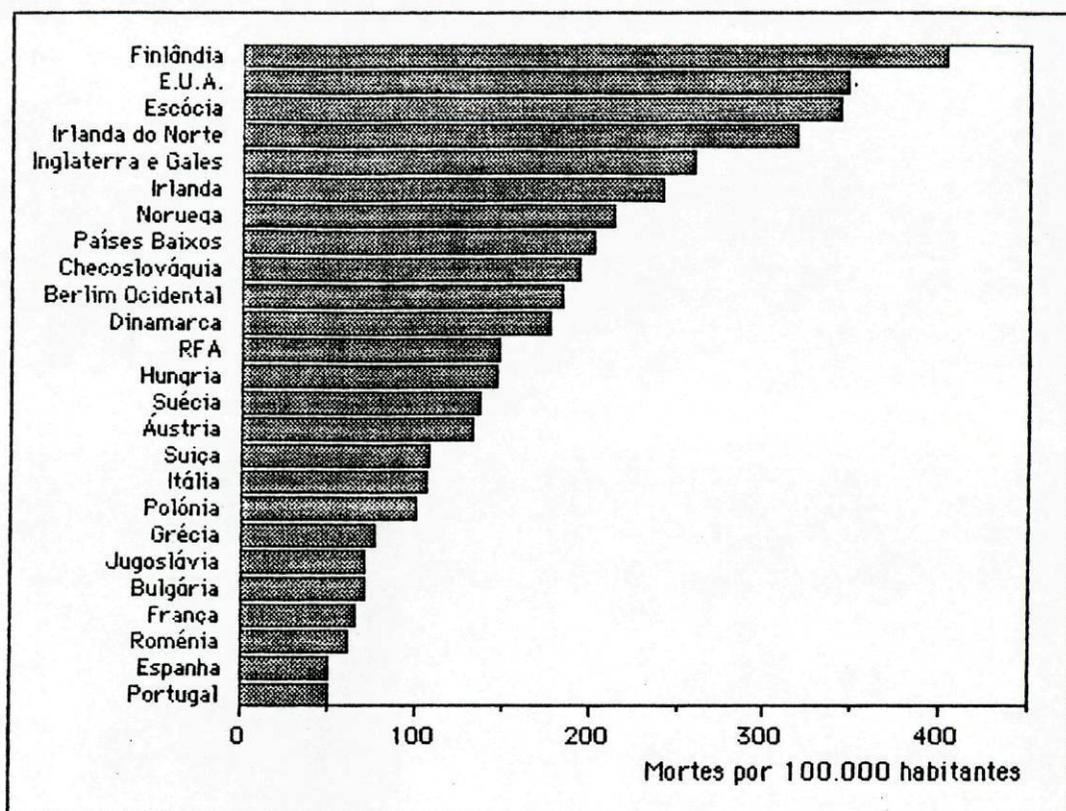
Nas Fig. 5 e 6 mostra-se que as causas de morte mais frequentes na população portuguesa, tanto em 1984 como em 1988 são as DCV, as quais englobam o EM, hemorragia intra-cerebral e outras hemorragias cranianas, enfarte cerebral, doenças cérebro-vasculares agudas mal definidas e aterosclerose. Aliás, as doenças cardiovasculares (DCV) ateroscleróticas são a maior causa de morte e de invalidez prematura em todos os países industrializados (ou em vias de desenvolvimento), o que pode facilmente ser comprovado pela Fig. 7, onde está representada a



**Figura 5.** Principais causas de morte em Portugal — número total (INE, Lisboa, 1988)



**Figura 6.** Principais causas de morte em Portugal por 100.000 habitantes (INE, Lisboa, 1984).



**Figura 7.** Mortalidade por doenças coronárias em homens com idade entre 45 e 54 anos em 1970 (OMS, Vital Statistics, 1, 323, Genebra), cit em Lipanthy, Fournier. O valor para Portugal refere-se ao período entre 1970 e 74 e para homens com idade entre 45 e 64 anos de idade [34].

mortalidade por doenças coronárias verificada em homens com idades entre 45-54 anos num estudo feito pela O.M.S. em 1970.

Um grande número de estudos permitiu aceitar algumas alterações fisiológicas ou hábitos como "factores de risco". Um grande número de estudos permitiu aceitar algumas alterações fisiológicas ou hábitos como "factores de risco". Portugal situa-se entre os países com menor incidência de mortes por doença cardíaca (Fig. 7).

Num trabalho publicado por Marmot e col. [34] que relacionaram o índice de mortalidade verificada em homens, com idades entre 45 e 64 anos, em dezasseis países, entre o período de 1970-1974, assinala Portugal entre os oito países com menor taxa de mortalidade por doença coronária.

Um grande número de estudos permitiu aceitar algumas alterações fisiológicas ou hábitos como factores de risco. Apresentam uma correlação estatística com o aparecimento da doença, sem necessariamente serem a sua causadora. A tentativa de definir um hábito como "factor de risco" é extremamente difícil, uma vez que os diferentes "factores de risco" aparecem muitas vezes associados, sendo impossível fazer o estudo isolado de cada um deles. Daqui resulta a grande divergência de opiniões quanto a algumas alterações de hábitos serem considerados "factores de risco", como adiante se esquematiza.

Há um consenso total em considerar como "factores de risco":

- 1- Hipertensão
- 2- Abuso do tabaco
- 3- Diabetes mellitus
- 4- Hipercolesterolemia
- 5- Alterações nas concentrações das Lps, quer na fracção lipídica, quer na fracção proteica.

Há divergência de opiniões quanto a considerar como "factores de risco" os seguintes:

- 6- Níveis elevados de triglicéridos
- 7- Consumo de álcool
- 8- Obesidade
- 9- Hiperuricemia
- 10- Uso de contraceptivos orais
- 11- Consumo de quantidades elevadas de café
- 12- Alterações nos valores de fibrinogénio no sangue
- 13- Idade elevada e sexo masculino [35]
- 14- "Stress do ambiente"
- 15- Elevado número de glóbulos brancos
- 16- Ter-se verificado anterior doença isquémica cardíaca (DIC)
- 17- Influência genética.

Poderemos talvez, com maior rigor, considerar como "factor de risco" para doenças cardiovasculares ateroscleróticas as características individuais que predispõem ao aparecimento da doença nesse indivíduo e que são o resultado da influência genética e do meio ambiente [1].

**Hipertensão** - É considerado um factor de risco inquestionável [36,37]. Dos muitos estudos sobre o efeito da hipertensão como causadora de DCV

escolhemos os seguintes:

O estudo epidemiológico de Logan e col. [38], que compara a taxa de mortalidade por DCV, entre os habitantes de Edimburgo e os habitantes de Estocolmo, verificou que um dos parâmetros em que havia mais diferença era a hipertensão dos habitantes de Edimburgo. (Assim como maior consumo de tabaco, vida mais sedentária, valores mais altos de triglicéridos).

Num trabalho realizado no Japão por Ueshima e col. [39], entre os anos de 1956-1980 verificou-se: - um aumento de mortalidade com um pico em 1970, que pode estar associado a um aumento da ingestão de lípidos, principalmente colesterol e ácidos gordos saturados. A descida nos níveis de pressão arterial, além da diminuição de tabagismo, e descida do "index body mass" podem justificar o abaixamento da mortalidade verificada entre 1970-1980. Este índice é a razão entre o peso expresso em gramas e a altura em centímetros.

**Abuso do tabaco** - Segundo Kuller e col. [2], o uso do tabaco está associado com o aumento de aterosclerose nas populações que consomem dietas ricas em colesterol e ácidos gordos saturados. O mecanismo do aumento de aterosclerose pode ser devido a um maior fluxo de ácidos gordos livres, seguida por um aumento de nicotina no sangue, ou ao efeito do monóxido de carbono sobre a íntima das artérias. O consumo de tabaco faz aumentar os níveis séricos de LDLc e TG e diminui a concentração de HDLc, afectando também o número de glóbulos brancos, hematócitos e viscosidade sanguínea [40].

Na Fig. 8 podemos ver a relação entre as concentrações de colesterol e incidência de DCV numa população de fumadores e uma de não fumadores.

Nos homens que deixaram de fumar são necessários cerca de 2 anos até possuírem risco para DCV semelhantes aos homens que nunca fumaram. Para as mulheres, 2-3 anos, independentemente do número de cigarros por dia e da duração do hábito de fumar [70].

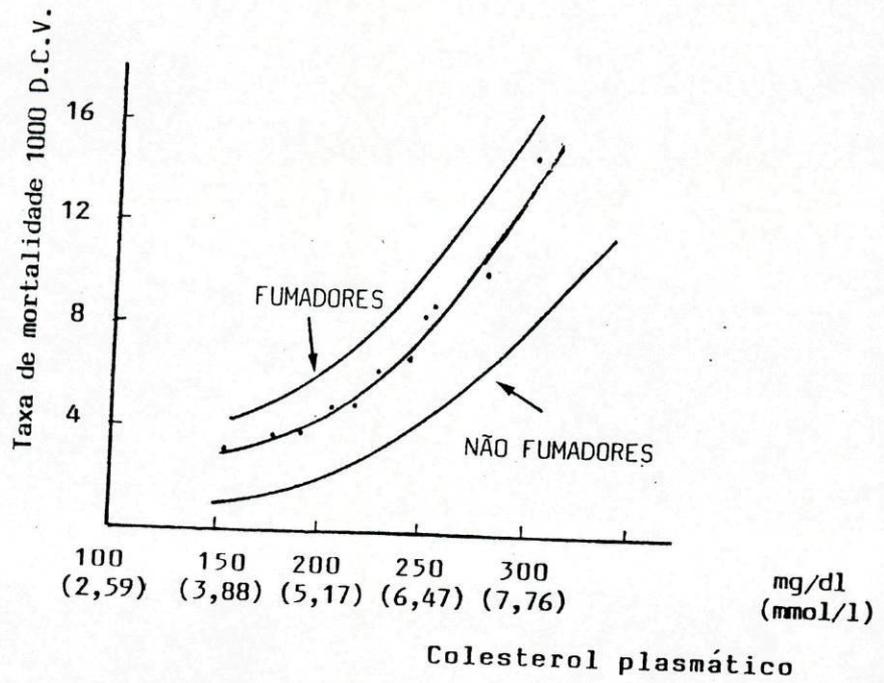
**Diabetes** [36,38] - É sem duvida um "factor de risco acentuado", visto que alterações no metabolismo dos hidratos de carbono irão forçosamente alterar o metabolismo dos lípidos.

**Hipercolesterolemia** [38] - Evidentemente que as alterações nas concentrações de colesterol estão relacionadas com alterações nas concentrações das Lps.

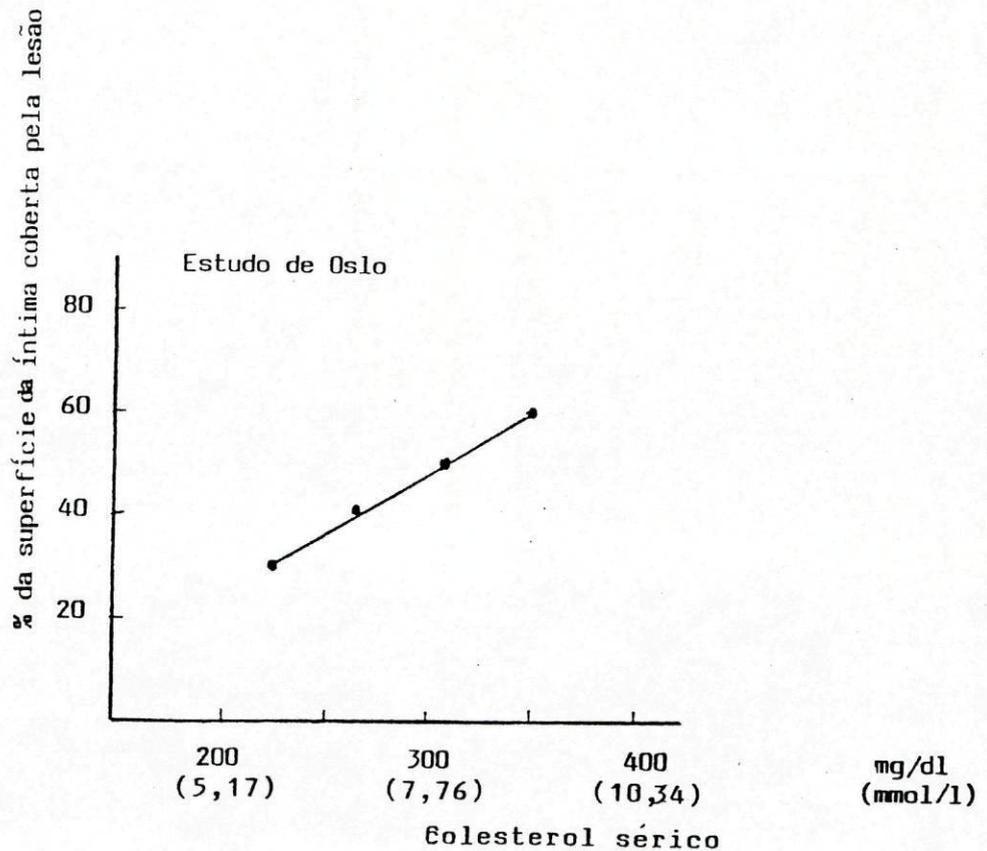
Na Fig. 9 podemos verificar claramente a relação entre as concentrações de colesterol e a severidade do grau de aterosclerose [41], sendo a aterosclerose expressa como a percentagem de artéria coronária coberta pela lesão aterosclerótica.

Na Fig. 10 estão esquematizadas as relações entre os níveis de colesterol sérico e o risco de DCV verificados em três estudos: "Framingham Heart Study" (círculos pretos), "Pooling Project" (triângulos) e "Israeli Prospective Study" (círculos claros).

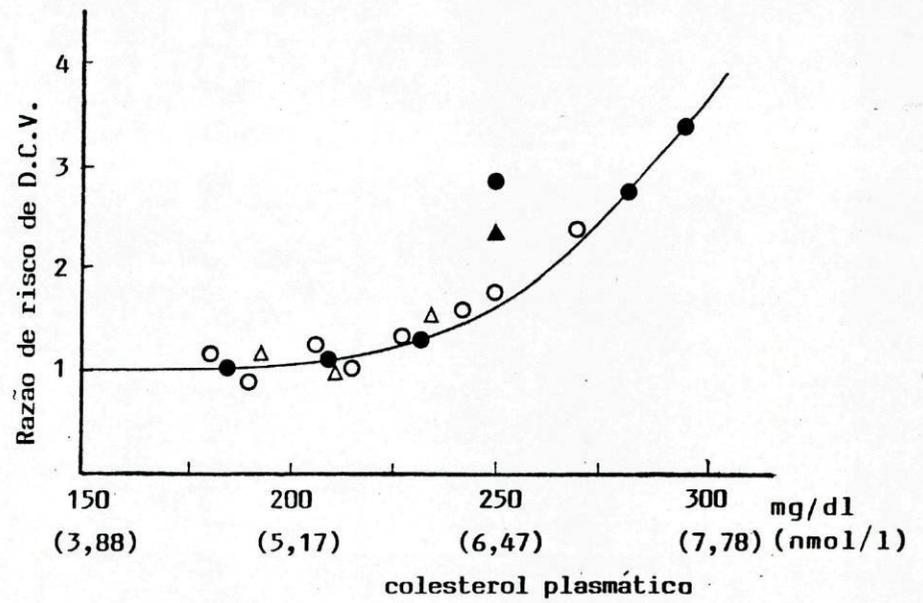
No entanto, é de mencionar que os valores elevados de colesterol só são considerados "factores de risco" até aos 65 anos por alguns autores [36], embora Benfante e col. [42] tenham opinião contrária e consideram que concentrações elevadas de colesterol são igualmente vaticinadores de risco, para indivíduos com mais de 65 anos.



**Figura 8.** Relação entre as concentrações de colesterol numa população de fumadores e não fumadores e a taxa de mortalidade (por mil) por doenças cardíaco-vascular [41].



**Figura 9.** Relação entre a severidade da aterosclerose (expressa em porcentagem coberta pela lesão aterosclerótica da artéria coronária) e os valores de colesterol sérico [41].



**Figura 10.** Relação entre o colesterol plasmático e DCV nos estudos de "Framingham Heart Study" (círculos fechados), "Pooling Project" (triângulos) e "Israeli prospective study" (círculos abertos). [41]

**Alterações nas concentrações das Lps séricas.** Valores séricos elevados nas seguintes Lps séricas são considerados potencialmente aterogénicos:

IDL  
VLD  
VLDL "remnants"  
Quilomicra  
LDL  
Lp (a) [43]

No entanto, como não existem ainda técnicas de rotina para determinar todos estes parâmetros, vamos considerar só os seguintes:

Valores elevados de LDLc são indutores de DCV [36, 38].

No estudo feito na população de North Karelia, Finlândia, com uma taxa elevada de mortalidade por DCV, um dos parâmetros que aparece alterado é o de valores elevados de LDLc [44]. Os valores de LDLc estão aumentados no plasma em consequência da interacção entre a susceptibilidade fenotípica e dietas ricas em colesterol e gorduras saturadas. O grau de responsabilidade pela doença entre a dieta e o genotipo varia de indivíduo para indivíduo. Nos indivíduos com hipercolesterolemia familiar, a influência genética será o factor principal, noutros será a dieta [1].

**Valores baixos de HDLc.** Desde que se demonstrou que a eliminação do colesterol dos tecidos das artérias humanas só podia verificar-se na presença do HDLc [45], o interesse no estudo deste constituinte das Lps foi muito intenso. Havendo neste momento a aceitação total de que valores baixos de HDLc estão relacionados com DCV [46].

A actividade física aumenta os valores de HDLc como se pode verificar no Quadro 4.

Os valores de HDLc diminuem com o consumo do tabaco [47].

A ingestão moderada de álcool aumenta a concentração de HDLc como se pode ver no Quadro 5.

As concentrações de HDLc estão inversamente relacionadas com o risco de DCV no homem e na mulher; parece, no entanto, que as concentrações de LDLc são menos consistentes na indicação de risco de DCV na mulher do que no homem [48].

**Varição nos níveis séricos das apolipoproteínas A-I e B.** Uma vez que as Lps são constituídas por uma associação lípido--apoproteína, e as apoproteínas são constituintes integrais e controladores do transporte e funções metabólicas das Lps do soro, a aterosclerose vascular estará directamente relacionada com a concentração de apo B existente no LDLc e VLDLc, e inversamente relacionada com a concentração de Apo A-I nas HDLc [48].

O aumento dos níveis séricos de VLDLc é também considerado aterogénico [38].

**Alterações nas concentrações séricas de triglicéridos.** Como já foi referido, as opiniões quanto a influência dos triglicéridos como factores de risco são divergentes. No estudo "The Tromso Heart Study" [49] não se verificaram diferenças significativas nos valores de triglicéridos entre a média dos valores das pessoas com história de DCV, que foi de  $1,90 \pm 0,70$  mmol/l. e a média obtida para os controlos,

<b>Actividade física de lazer</b>				
<b>Actividade</b>	<b>Homens</b>		<b>Mulheres</b>	
	Casos	HDLc mM (s)	Casos	HDLc mM (s)
Pouca	148	0,90 (0,43)	45	1,24 (0,54)
Intensa	132	0,96 (0,44)	23	1,21 (0,41)

<b>Actividade física de trabalho</b>				
<b>Actividade</b>	<b>Homens</b>		<b>Mulheres</b>	
	Casos	HDLc mM (s)	Casos	HDLc mM (s)
Nenhuma	99	0,89 (0,40)	5	1,42 (0,61)
Pouca	70	0,88 (0,43)	30	1,20 (0,37)
Intensa	111	1,01 (0,46)	33	1,23 (0,58)

**Quadro 4.** Relação entre HDLc sérico e actividade física [46].

<b>Consumo</b>	<b>Homens</b>		<b>Mulheres</b>	
	Casos	HDLc mM (s)	Casos	HDLc mM (s)
ml de etanol por semana				
0	20	0,81 (0,33)	17	1,04 (0,33)
1 a 49	124	0,91 (0,46)	34	1,17 (0,41)
50 a 99	46	0,95 (0,43)	13	1,65 (0,70)
100 a 199	37	0,98 (0,49)	4	1,23 (0,39)
200 ou mais	53	0,98 (0,37)	—	—
Totais/médias	280	0,93 (0,43)	68	1,23 (0,30)

**Quadro 5.** Relação entre HDLc sérico e ingestão de álcool [46].

que foi de  $187 \pm 135$  m mol/l. Por outro lado, os trabalhos de Wilhelmsen e col. [35] num estudo epidemiológico sueco, obtiveram os valores médios de  $1,24 \pm 0,72$  m mol/l para o grupo sem DCV e  $1,46 \pm 0,54$  m mol/l para o grupo com DCV e concluem que os valores de triglicéridos podem prognosticar DCV, sendo as alterações verificadas nos valores de triglicéridos de maior significado nas populações mais jovens. No entanto, as hiperlipidemias do tipo III [2], estão associadas com o aumento da concentração de triglicéridos e um aumento substancial de risco de aterosclerose. Um aumento do consumo de ácido omega-3 gordo, do óleo dos peixes, provoca uma descida dos valores de triglicéridos, possivelmente por provocar um aumento de sensibilidade a insulina e uma aparente redução no risco de ataque cardíaco.

**Consumo de álcool.** Apesar de o álcool fazer elevar os valores de apo A-I e HDLc [50], afectando mais a fracção HDL<sub>3</sub> do que a fracção HDL<sub>2</sub> não podemos recorrer ao seu consumo como medida profiláctica de DCV, uma vez que também faz aumentar as concentrações séricas de triglicéridos (sendo aqui o seu efeito mais notório), colesterol, LDLc e VLDLc [71]. Podemos aceitar que traga efeitos benéficos quando consumido em pouca quantidade, mas nefastos quando em excesso [51].

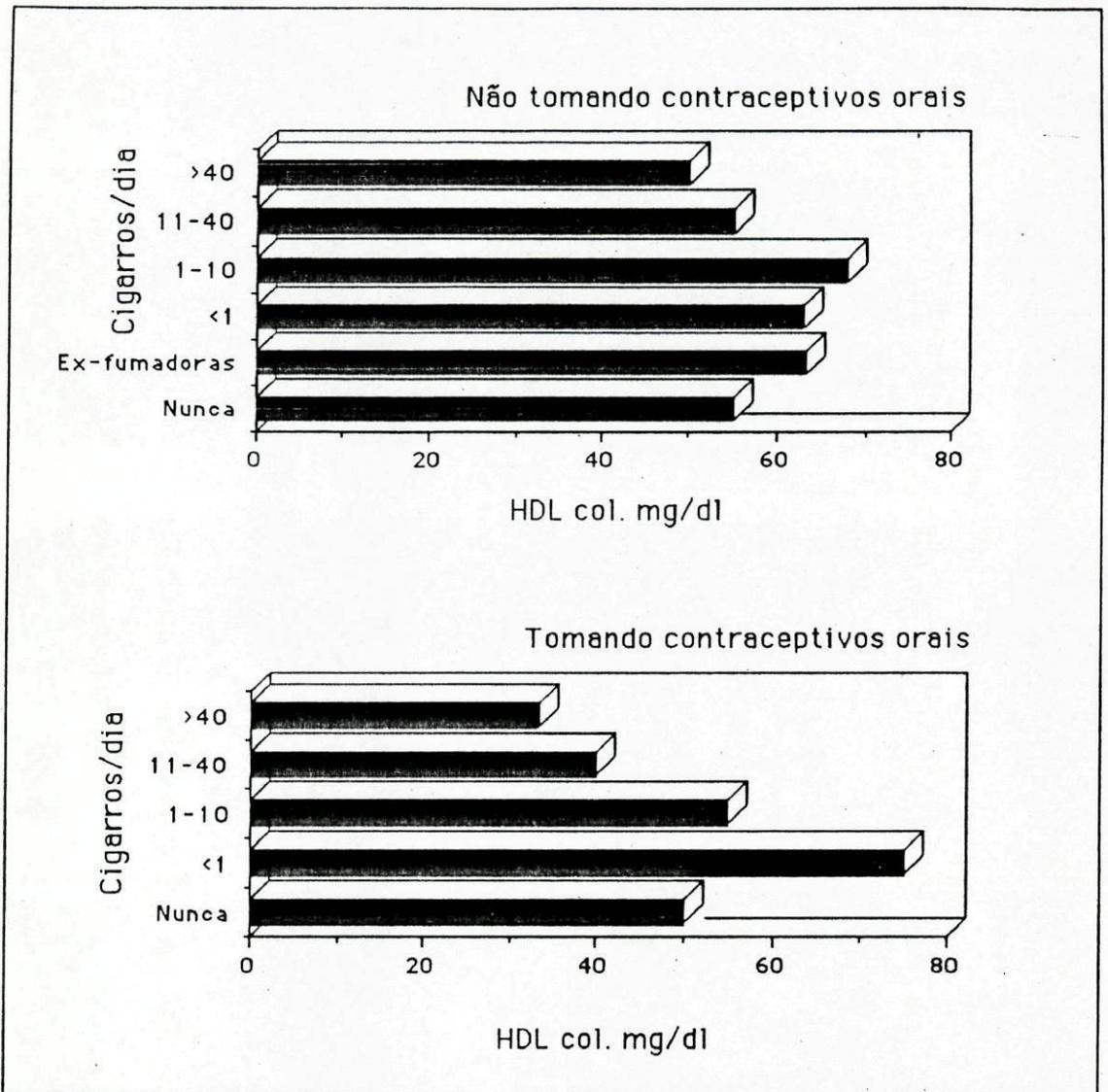
**Obesidade.** Muitos trabalhos se têm publicado sobre o relacionamento de obesidade com aterosclerose, chegando a conclusões divergentes, visto que as pessoas com excesso de peso podem ter diferentes hábitos alimentares, diferentes adaptações ao stress, diferentes mecanismos de protecção hormonal, diferentes graus de sedentarismo. Não se aceitando que a obesidade seja uma causa directa de aterosclerose, é de consenso geral que o excesso de peso deve ser evitado, visto que pessoas com mais peso serão possivelmente mais sujeitas a DCV, e por outro lado a obesidade pode aumentar o risco de outras doenças que por sua vez possam induzir aterosclerose [52].

**Acido úrico.** Assman [22], entre muitos, considera níveis elevados de ácido urico como um factor de risco. No entanto, apesar dos estudos realizados por Okada e col. [53] apontarem para uma correlação significativa entre as concentrações de b-Lps, triglicéridos e hipertensão com os valores de ácido úrico, as conclusões quanto a associação de ácido úrico com DCV, continuam a ser divergentes.

**Uso de contraceptivos orais.** Entre a ingestão de contraceptivos orais e os valores de triglicéridos existe uma correlação positiva [54]. Contraceptivos com progestina reduzem o HDLc [55]. Também sabemos que o uso de anticoncepcionais orais é um dos indutores de hiperlipoproteinemias do grupo IV da classificação de Fredrickson. No estudo feito por Woors e col. [56], do efeito do tabagismo e do uso de contraceptivos orais numa população jovem (que ainda não esteja sujeita ao efeito de outro "factor de risco"), sobre os valores de HDLc, verificou-se que os valores mais baixos de HDLc apareciam nas jovens que fumavam, quer tomassem ou não contraceptivos orais; no entanto, os valores eram mais baixos nas jovens que fumavam e tomavam contraceptivos orais. Os resultados obtidos, estão esquematizados na Fig. 11 [56].

**Consumo de café.** No estudo realizado por Thele D.S. e col. [57] relacionou-se o efeito da ingestão de café sobre os níveis séricos dos lípidos, concluindo que com a ingestão de café há um aumento dos valores de colesterol em ambos os sexos; diminuição dos valores de HDLc nas mulheres; aumento dos valores de triglicéridos em ambos os sexos. No entanto, estes aumentos podem não ser só da responsabilidade da cafeína.

Alguns autores referem que existem dados que levam a crer que o aumento



**Figura 11.** Relação entre o uso de tabaco e anticoncepcionais orais e a concentração de HDLc.

de fibrinogénio está associado com o stress e aumenta a susceptibilidade de DCV [58]. Concentrações aumentadas de fibrinogénio no plasma, elevam a viscosidade do sangue, o que aumenta o risco de formação de trombo [17].

**"Stress" do meio ambiente.** O "stress" físico ou espiritual desempenha um papel importante nas variações da concentração de colesterol plasmático, podendo ser a causa das diferenças de concentrações observadas em doseamentos de colesterol no mesmo indivíduo em dias sucessivos, não estando ainda determinado o mecanismo neuro-humoral envolvido [2]. No entanto, podemos considerar a hipótese de exercer a sua influência sobre o metabolismo da insulina e dos ácidos gordos.

**Influência do sexo.** A grande diferença na extensão de aterosclerose entre homens e mulheres, especialmente nas artérias coronárias, é provavelmente um fenómeno universal. A razão desta diferença não está ainda completamente elucidada, mas certamente está relacionada, em alguma extensão, com o metabolismo das hormonas sexuais. A menopausa artificial e histerectomias demonstraram em animais de experiência e em mulheres um aumento de aterosclerose. Assim, como a terapia substitutiva de estrogénios demonstrou reduzir, senão a aterosclerose, pelo menos o risco de morte por DCC. A diferença biológica mais importante para a maior susceptibilidade masculina parecem ser as concentrações mais elevadas de HDLc e Apo-I observadas nas mulheres [2].

Vários estudos epidemiológicos e clínicos permitiram concluir que o aumento do número de leucócitos tem um forte valor predictivo de risco de DCV, sendo esse valor predictivo independente dos níveis séricos de colesterol, do hábito de tabagismo ou da hipertensão. Verifica-se uma associação decrescente entre o número de neutrófilos, o número de eosinófilos, e o número de monócitos e risco de DCV.

Lowe et col. [59] realizaram a contagem de leucócitos em indivíduos após EM, durante 60 meses, e verificaram que indivíduos com um número de leucócitos superior a 9000/ $\mu$ l, tinham um risco relativo de reincidência igual a 35, ao passo que indivíduos com um número de leucócitos inferior a 5000/ $\mu$ l possuíam um risco relativo de reincidência igual a 1. O número de leucócitos estava relacionado com o uso do tabaco, uso de diuréticos, concentração de colesterol e concentração de ácido úrico.

Ainda existem muitas hipóteses, não confirmadas sobre o mecanismo de acção exercido pelo número de leucócitos no processo aterogénico. Não nos podemos esquecer que um número elevado de leucócitos pode ser resultante de uma inflamação crónica, assim como que o "stress" é aceite por muitos autores como um verdadeiro factor de risco, associado a um aumento dos níveis de catecolaminas e ao número de leucócitos do sangue.

Ernest et col. [59] afirmam que estudos recentes da lesão microvascular, da activação leucocitária, e hemorreologia, permitiram apoiar a hipótese de que o número de leucócitos contribui duma forma importante na lesão microvascular e na aterosclerose e que uma leucocitose crónica reflete risco isquémico.

Se tiver havido doença isquémica cardíaca, isto constitui um factor de risco para posteriores episódios da doença isquémica cardíaca, podendo ter maior influência do que os factores de risco convencionais [66].

A mortalidade por DCV alterou-se apreciavelmente em vários países, nas últimas décadas. Nos E.U.A, na Nova Zelândia [60], na Austrália [61] e em Israel [62], verificou-se uma descida inequívoca de incidência de DCV. Na Itália, no período de 1978-88, talvez se tenha iniciado um período de declínio da incidência de DCV, porém

bastante atrasado em relação aos resultados obtidos nos E.U.A. e Austrália [63]. Na Bélgica verificou-se um aumento de mortalidade por DCV, entre 1950-1960, começando a verificar-se um certo declínio a partir de 1970 [64]. Na Polónia observou-se um aumento de DCV no período entre 1970-1982 [65]. A diminuição da mortalidade por DCV talvez se tenha verificado devido a:

- diminuição do consumo de tabaco
- diminuição da concentração de lípidos sanguíneos
- diminuição da hipertensão.

Para se obter resultados semelhantes a "Associação de Hiperlipidemia Britânica" [67] recomenda a determinação da concentração dos lípidos do sangue, pelo menos uma vez, antes dos 30 anos, em toda a população. As recomendações, quanto a concentração dos lípidos sanguíneos da sociedade Europeia de Aterosclerose [68] estão esquematizados no Quadro 6. Juntando o trabalho das duas associações resultam os seguintes conselhos:

-Deixar de fumar. Fumar é o maior "factor de risco", em DCV, doenças vasculares periféricas e aneurisma, principalmente em populações com elevada concentração de colesterol, além de ser a causa mais importante conhecida de doenças e cancro respiratório. Para tal, devem ser fomentados programas de educação, quanto ao perigo do tabaco, cobrar elevados impostos sobre os cigarros e estabelecer a proibição de fumar em todos os locais públicos.

-Redução de peso para o "peso recomendado".

Peso recomendado = (altura em cm-100) kg.

-Redução da hipertensão.

-Redução da quantidade de gorduras ingeridas diariamente para 30% do valor calórico total.

-Redução da ingestão de ácidos gordos saturados (contidos em alimentos de origem animal, óleos hidrogenados e alguns produtos vegetais), para menos do que 10% do total da dieta energética diária.

-Redução do colesterol da dieta para menos do que 300 mg/dia.

-Aumento do uso do ácido oleico e linoleico (e todos os ácidos gordos cis-polinsaturados).

-Aumento da ingestão de frutos, vegetais e cereais fibrosos.

-Moderação no consumo de sal (e ingestão de potássio suplementar para os hipertensos).

-Fomentar o conhecimento da importância duma alimentação adequada na saúde.

-Evitar o consumo excessivo de álcool [69].

-Prática de exercício físico, principalmente exercício físico aeróbio, para os indivíduos mais novos [72] duma forma regular, frequente e adequada para as diferentes idades.

Segundo Mc Carthy, as vitaminas anti-oxidantes podem ajudar a controlar a pressão sanguínea e os níveis de colesterol sérico, funcionando como cárdio-protectores [15].

-Diagnóstico, o mais cedo possível, dos factores hereditários genéticos que possam levar a DCV.

Parâmetros	Diagnóstico	Tratamento
<b>A- Colesterol</b> 200-250 mg/dl <b>Triglicéridos</b> <200mg/ml	Estabelecer o risco de DCV., hipertensão, diabetes, sexo masculino, idade, tabagismo, valores de HDLc <35 mg/dl	Restrição de calorias na dieta se houver sobrepeso; fornecer conselhos dietéticos e tentar corrigir-se existirem outros factores de risco.
<b>B- Colesterol</b> 250-300 mg/dl <b>Triglicéridos</b> <200mg/ml	Estabelecer os riscos de DCV como em A.	Restrição de calorias na dieta se houver sobre peso; prescrever dieta que baixe as concentrações lipídicas, quantificação da resposta obtida. Se o colesterol permanecer alto considerar o uso de medicamentos que diminuam as concentrações dos lipídios séricos.
<b>C- Colesterol</b> <200 mg/dl <b>Triglicéridos</b> 200-500mg/dl	Tentar descobrir as causas da hipertrigliceridemia como por exemplo: obesidade, excessiva ingestão de álcool, diuréticos beta bloqueadores, estrogêneos exogêneos, diabetes.	Restrição de calorias na dieta se houver sobre peso; considerar as causas da hipertrigliceridemia. Prescrever e analisar os efeitos de dietas que diminuam os lipídios séricos. Vigiar os valores de colesterol e triglicéridos.
<b>D- Colesterol</b> 200-300 mg/dl <b>Triglicéridos</b> 200-500mg/dl	Estabelecer os riscos de DCV como em A. Tentar descobrir as causas de hipertrigliceridemia como em C.	Restrição de calorias da dieta se houver sobre peso considerar as causas de hipertrigliceridemia e proceder como em A e B. Prescrever e analisar os efeitos de dietas que baixem os valores lipídicos no soro. Se não se obtiver resposta adequada nos lipídios séricos e o risco de DCV for elevado equacionar o uso de medicamentos que diminuam os valores de lipídios séricos.
<b>E- Colesterol</b> >300 mg/dl e / ou <b>Triglicéridos</b> >500 mg/dl		Enviar a um clínico especialista para diagnóstico adequado e tratamento por dieta e medicamentos, se necessário.

**Quadro 6.** Recomendações da Sociedade Europeia de Aterosclerose para o diagnóstico e tratamento das doenças cardíaco-vasculares.

Conversão de mg/dl em mM

Colesterol		HDLc		Triglicéridos	
mg/dl	mM	mg/dl	mM	mg/dl	mM
200	5,2	35	0,9	200	2,3
250	6,5			500	5,6
300	7,8				

### 3. Lípidos do sangue

Os principais lípidos que circulam no plasma (Fig.12) são: colesterol livre e esterificado, triglicéridos, fosfatidilcolina e ácidos gordos saturados e insaturados. No entanto, estes lípidos não são solúveis no plasma, tornando-se transportáveis porque estão ligados a fracções proteicas chamadas apoproteínas. A reunião da fracção lipídica e da fracção proteica constitui a Lp.

Existem várias Lps que podem ser representadas pela seguinte estrutura geral, numa forma simples. (Fig.13) ou de uma forma um pouco mais complexa (Fig.14). A coroa periférica assegura a dispersão das Lps no plasma efectuando assim a Lp ou transporte plasmático dos lípidos mais hidrófobos: ésteres de colesterol (EC) e TG. Existem, essencialmente, 6 Lps, todas formadas por uma fracção proteica (apoproteína ou apolipoproteína) e uma fracção lipídica (colesterol livre e esterificado, triglicéridos e fosfolípidos), em proporções diferentes, segundo o tipo de Lp.

**Quilomicras.** São formadas no intestino; transportam os triglicéridos exógenos; apresentam uma fracção lipídica constituída por 98-99,5% de lípidos e 0,5-2% de proteínas (Fig. 15) e têm uma densidade inferior a 0,95 g/ml; formam um anel lipídico, na parte superior do tubo de ensaio, após repouso, durante uma noite, no frigorífico.

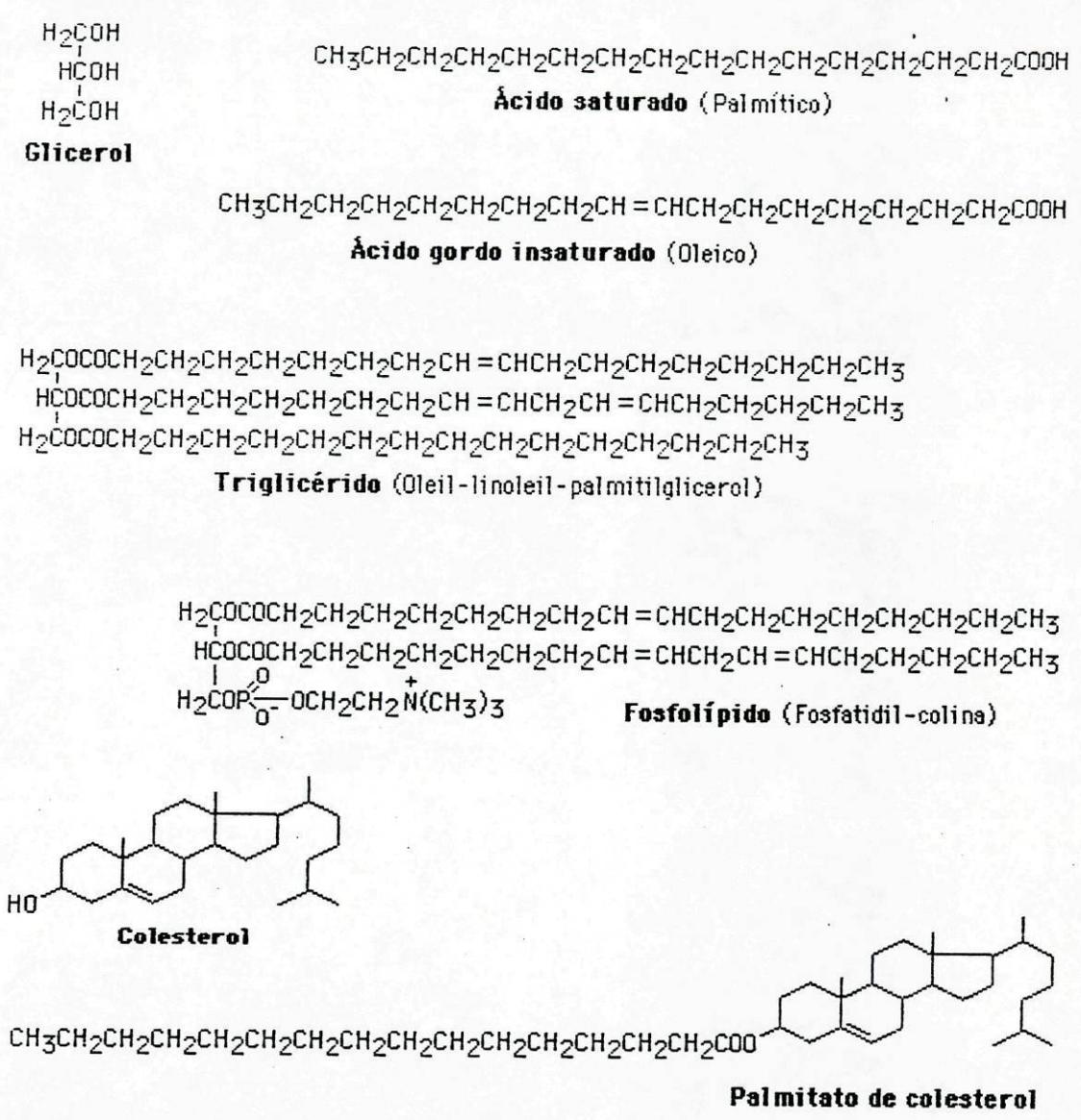
**VLDL.** Lipoproteínas de muito baixa densidade. Formam-se no fígado; transportam os triglicéridos endógenos; são constituídas por 85-90% de lípidos e 10-15% de proteínas (Fig. 16); têm uma densidade inferior a 1,006 g/ml.

**LDL.** Lipoproteínas de baixa densidade. Transportam o colesterol do sangue; aparecem como um produto metabólico das VLDL e contêm aproximadamente 75% de lípidos e 25% de proteínas (Fig. 17); têm uma densidade entre 1,019 e 1,063 g/ml.

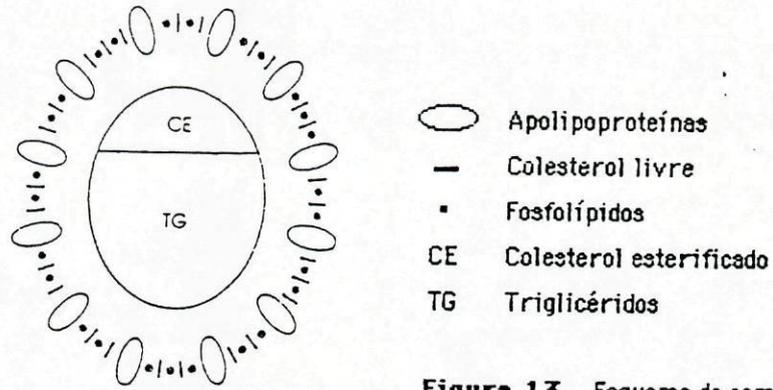
**HDL.** Lps de alta densidade. Contêm aproximadamente 50% de lípidos e 50% de proteínas (Fig.18); são produzidas no intestino e fígado e libertadas no plasma, sendo capazes de captar o colesterol das células e levá-lo de volta para o fígado. As HDL, de densidade entre 1,063 e 1,210 g/ml, estão divididas em duas sub-fracções: HDL<sub>2</sub> e HDL<sub>3</sub>. A primeira apresenta uma densidade de 1,063 a 1,125 g/ml e a segunda de 1,125 a 1,210 g/ml. A HDL<sub>2</sub> subdivide-se ainda em HDL<sub>2b</sub>, com uma densidade de 1,063-1,100g/ml, e HDL<sub>2a</sub>, com uma densidade de 1,100-1,125 g/ml [73]. Diferenciam-se com base em variações de composição, assim como em diferentes propriedades estruturais e funcionais. O sexo feminino apresenta valores consideravelmente mais elevados em HDL<sub>2</sub> que o sexo masculino; aliás, estudos feitos em populações sugerem que as flutuações nos valores de HDL sejam devidas a alterações nas concentrações de HDL<sub>2</sub>.

**IDL.** Lipoproteínas de densidade intermédia, com densidade compreendida entre 1,006 e 1,019 g/ml; na ausência de doenças metabólicas encontram-se em muito baixa concentração no plasma. As IDL são um produto metabólico das VLDL e precursoras das LDL.

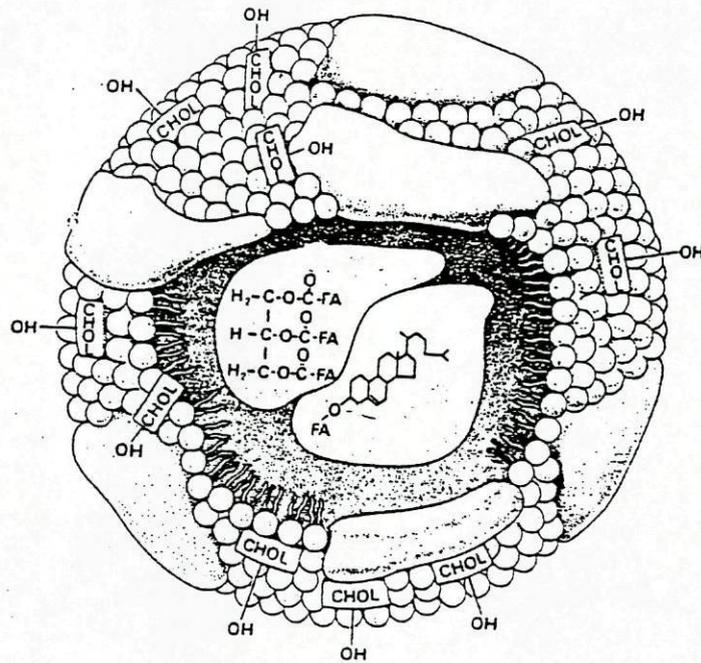
**Lipoproteína (a) -[Lp(a)]** Foi descrita pela primeira vez em 1963 por Berg K. [43] como uma variante genética da LDL. Não se sabe ainda qual a sua função, nem como é biossintetizada. Em 1972 Dahlen e col. observaram que indivíduos com níveis aumentados desta Lp apresentam um maior risco de aterosclerose e DCV [43]. No Quadro 7 refere-se a composição química de Lp(a) e algumas das suas propriedades



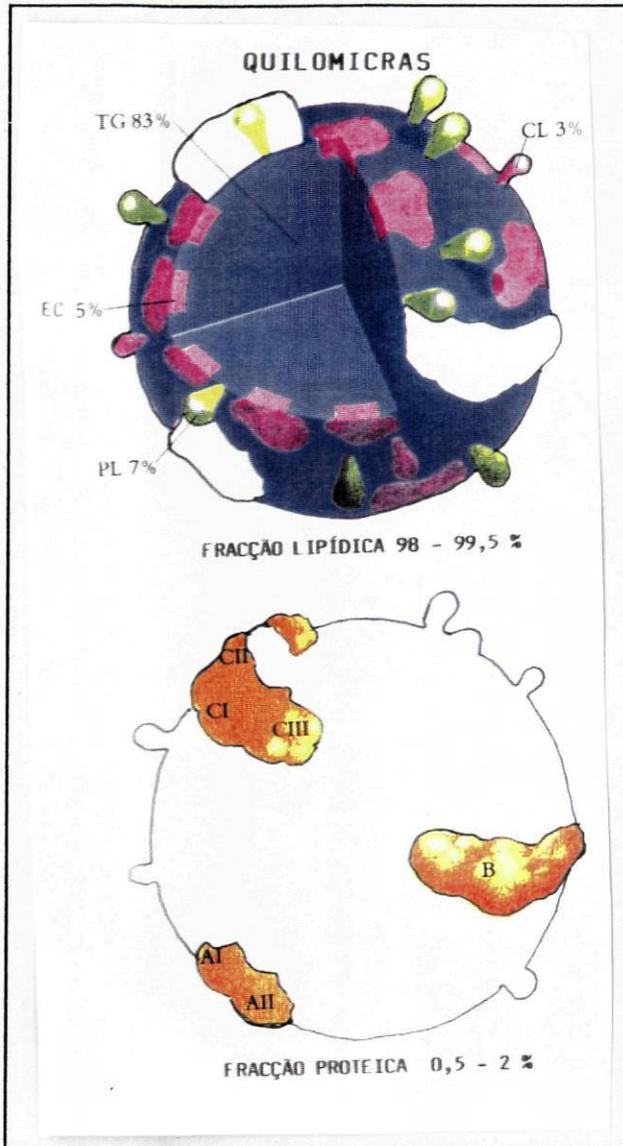
**Figura 12.** Estrutura química dos principais lípidos que circulam no plasma.



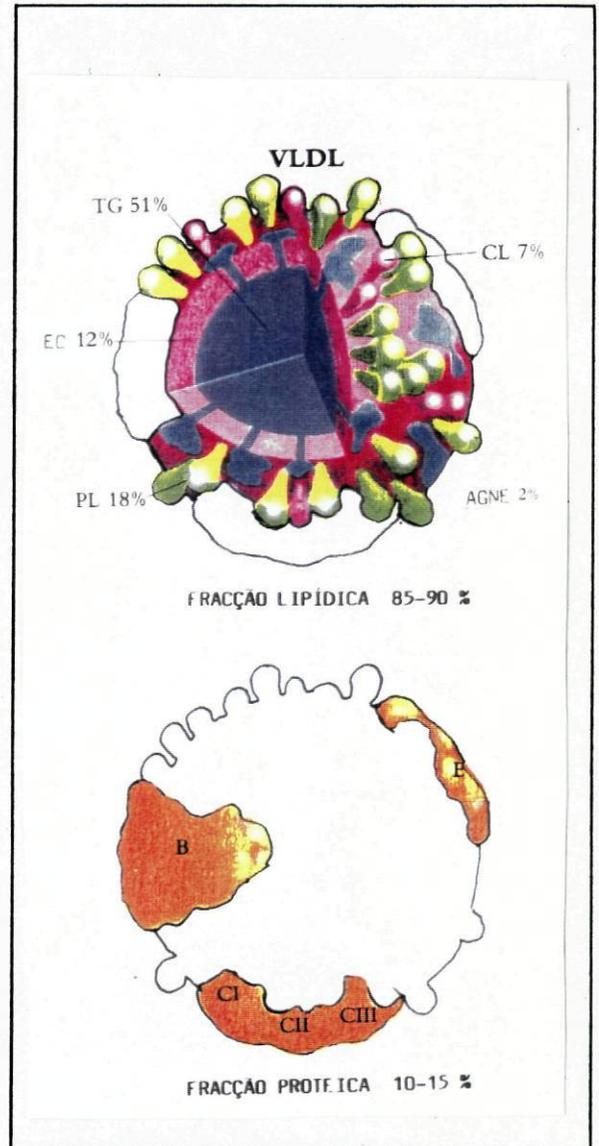
**Figura 13.** Esquema da composição de uma Lp plasmática.



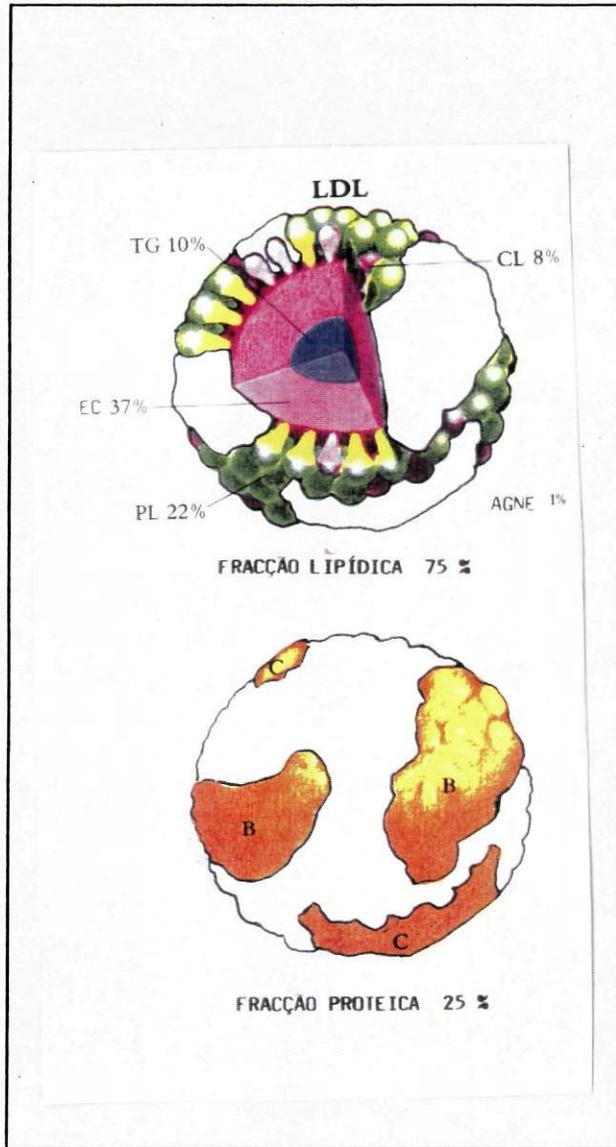
**Figura 14.** Esquema de uma Lp plasmática, em que se representam no interior os ésteres de colesterol e os triglicéridos; no exterior representam-se por círculos as partes hidrófilas dos fosfolípidos, os hidroxilos do colesterol livre e ainda as apolipoproteínas.



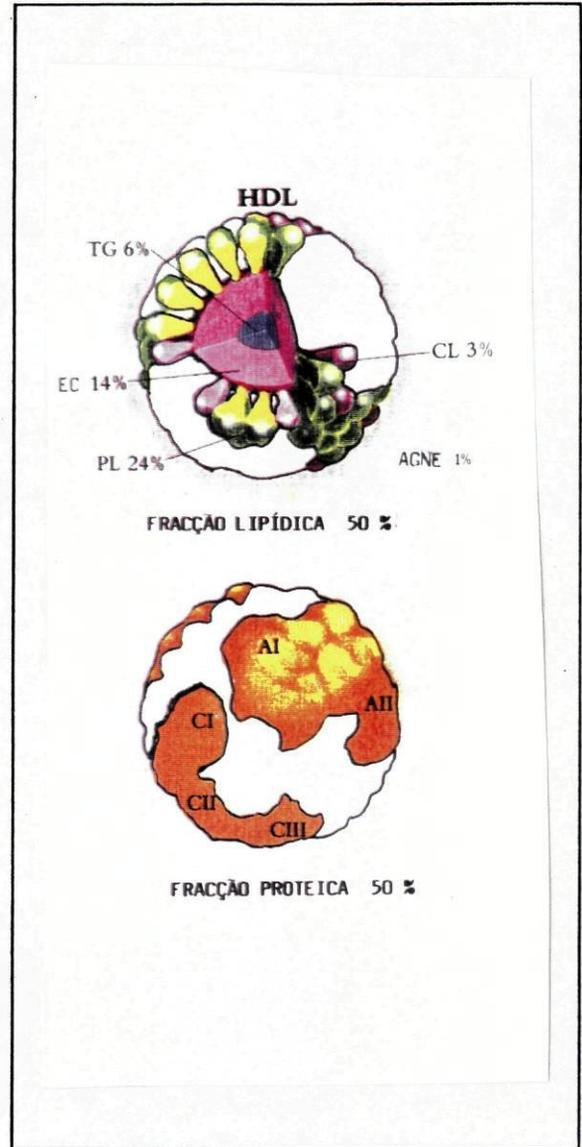
**Figura 15.** Esquema da estrutura das quilomicras.



**Figura 16.** Esquema da estrutura das VLDL.



**Figura 17.** Esquema da estrutura das LDL.



**Figura 18.** Esquema da estrutura das HDL.

<b>Composição química</b>			
Proteína	26%		
Acúcar	8%		
Lípidos	66%	Fosfolípidos	30%
		Colesterol livre	17%
		Ésteres de colesterol	48%
		Triglicéridos	5%
<b>Propriedades físico-químicas</b>			
Densidade		1,085	
Migração electroforética		pré- $\beta$	
Diâmetro		25 mm	

**Quadro 7.** Composição química e propriedades físicas da Lp(a) [43].

físico-químicas.

Resumindo o que foi dito, a Fig.19 representa as diferentes lipoproteínas, a constituição lipídica e proteica, assim como as alterações verificadas nessas fracções constituintes quando as quilomicras são metabolizadas até VLDL e LDL, assim como as trocas verificadas entre HDL e VLDL.

Na realidade, o colesterol total representa o colesterol livre e esterificado que entra na composição de cada uma das Lps. Do mesmo modo, os triglicéridos e fosfolípidos representam os triglicéridos e os fosfolípidos veiculados por cada uma dessas Lps, respectivamente. As diferentes proporções em que entra cada um dos constituintes confere a cada Lp, densidade de flutuação ou coeficiente de Svedberg, mobilidade electroforética e peso molecular característicos (Quadro 8).

As Lps podem ser separadas quer por ultracentrifugação analítica e diferencial, tomando as fracções obtidas as designações de : HDL, VLDL e LDL, quer por electroforese, recebendo cada uma das bandas as designações de: beta - lipoproteína (b-Lp), pré-beta, (pré-b Lp) e alfa (a-Lp).

A correspondência entre as duas designações é a seguinte:

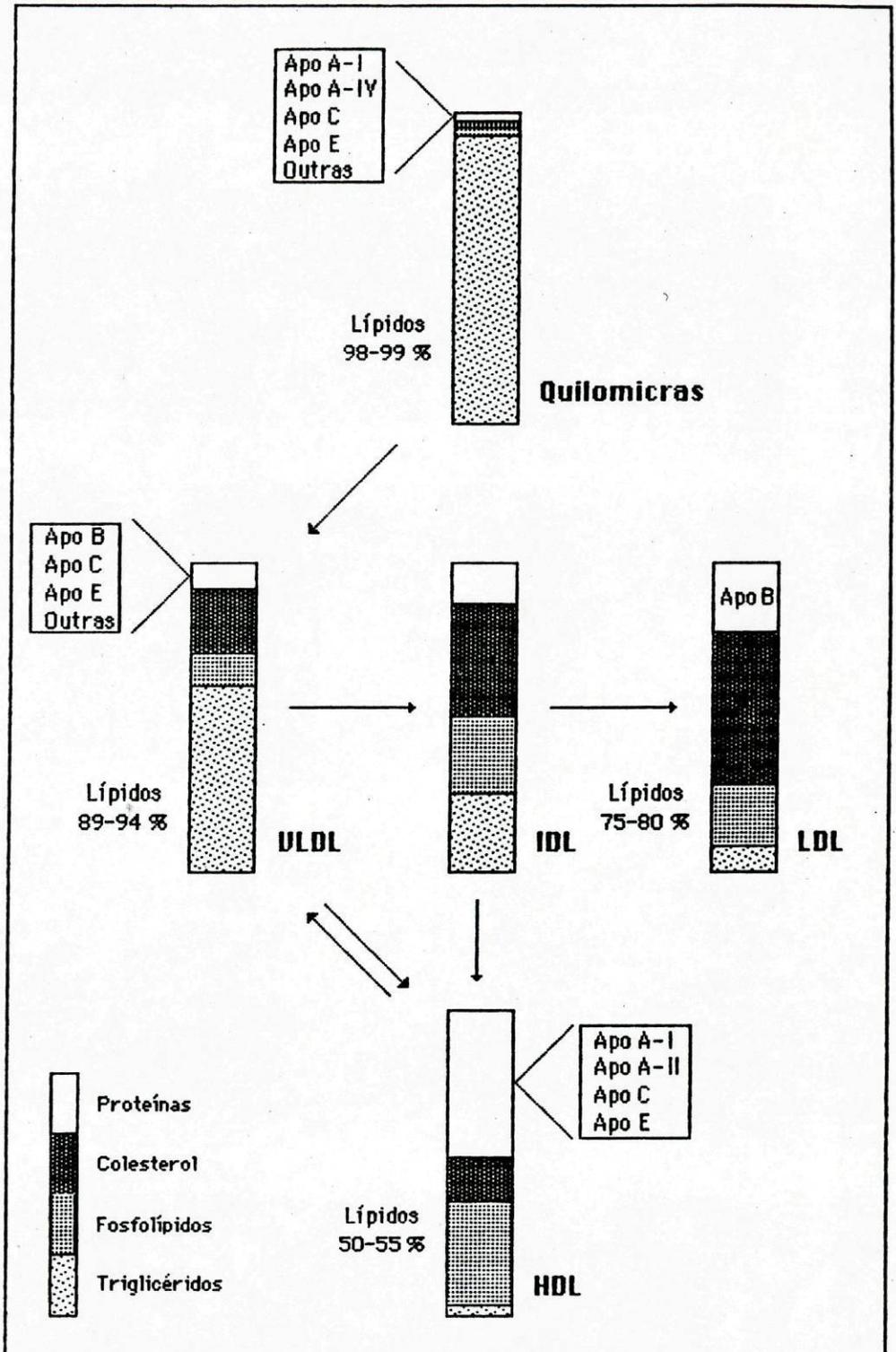
b-Lp - LDL  
pré b-Lp - VLDL  
a-Lp - HDL

Se a composição lipídica das Lps se conhece há muitos anos, estudos mais recentes permitiram precisar a estrutura da fracção proteica ou apolipoproteína. Até este momento conhecem-se 13 apolipoproteínas no plasma humano designadas por ordem alfabética, que estão enunciadas no Quadro 9 [75]. Referem-se também às Lps em que se encontram e o respectivo peso molecular.

**Funções das apolipoproteínas do plasma.** As apoproteínas são essenciais para a manutenção da integridade da estrutura das partículas lipoproteicas. Algumas apoproteínas são activadoras ou inibidoras de enzimas lipolíticas, enquanto outras têm funções determinantes como intermediários receptores no catabolismo das Lps [74]. As apolipoproteínas além de, como já se referiu, permitiram o transporte da parte mais hidrófoba, desempenham ainda um outro importante papel: é sabido que a troca de apoproteínas facilita a troca de lípidos hidrófobos entre diferentes partículas lipoproteicas em solução aquosa. A apolipoproteína anfipática, que está no limite entre o núcleo e o meio aquoso, intercala-se entre o grupo polar da cabeça dos fosfolípidos e juntamente com a interacção fosfolípidos/proteínas, pode existir uma interacção proteína/proteína à superfície das partículas.

É possível agora compreender como uma apolipoproteína pode modular a função de outra, por interacção directa entre as diferentes apolipoproteínas. Um exemplo deste fenómeno é a interacção entre as apolipoproteínas C-III e E: as Lps ricas em TG, durante a lipólise, tornam-se mais pequenos e enriquecidos em apo E, perdendo apo C-III neste processo. A apolipoproteína E torna-se, então, capaz de se ligar aos receptores E do fígado, permitindo a remoção dos "remnants" (ricos em TG) do plasma [75]. As funções das apoproteínas do plasma humano referem-se no Quadro 10 .

Apolipoproteína A-I. O interesse do estudo desta apoproteína aumentou desde que surgiu a hipótese de que valores baixos de HDLc e apo A-I estão associados a DCV.



**Figura 19.** Constituição lipídica e proteica das diferentes lipoproteínas. Esquemmatizam-se as alterações que se verificam quando as quilomicras são metabolizadas em VLDL e LDL, e as VLDL em HDL.

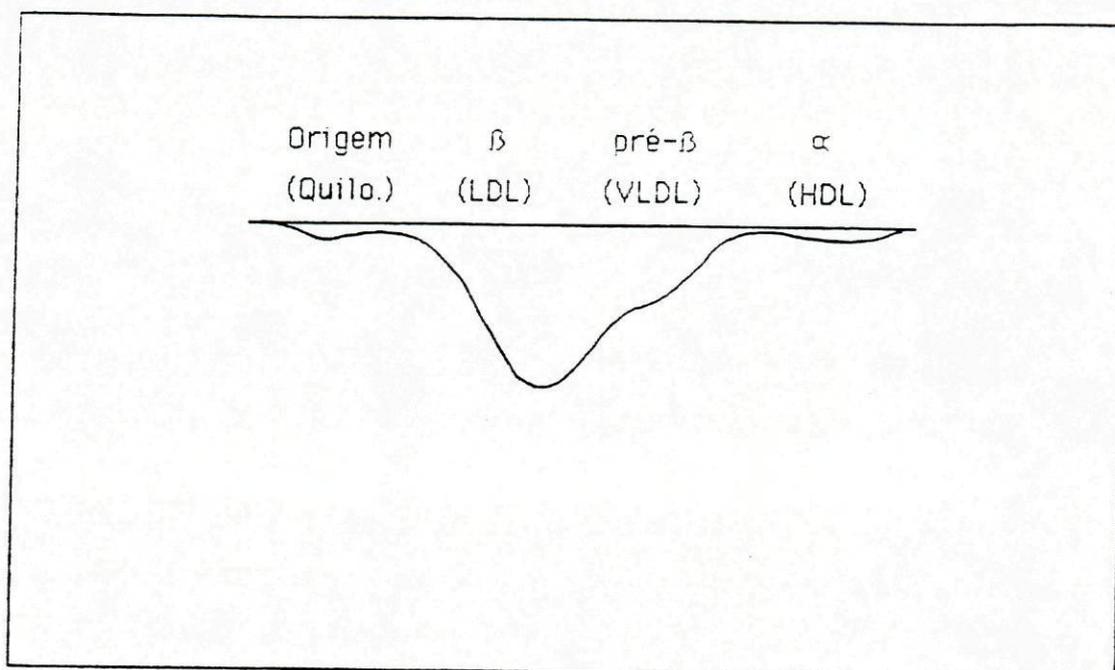
Características	Quilomicras	VLDL	LDL	HDL
Densidade	0,95	1,006	1,019-1,063	1,063-1,210
Coefficiente de Svedberg*	>400	20-400	0-20	—
Mobilidade electroforética	Origem	pré-β	β	α
Diâmetro (Å)	750 a 10.000	300-800	200-220	70-95
Proteínas (%)	0,5-2	10-15	25	50
Triglicéridos (%)	85	51	10	6
Colesterol livre (%)	3	7	8	3
Colesterol esterificado (%)	5	12	37	14
Fosfolípidos (%)	7	18	22	24

\* Unidade de flutuação de Svedberg:  $10^{-3} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1} \text{ dine}^{-1} \text{ g}^{-1}$  numa solução de NaCl de densidade igual a 1,063, a 26°.

**Quadro 8.** Características físicas e composição das principais lipoproteínas plasmáticas humanas.

Apolipoproteínas	Classe de maior densidade	Massa molecular
A-I	HDL	28.000
A-II	HDL	17.000
A-IV	Quilomicras	43.000
B <sub>100</sub>	VLDL, HDL, LDL	375.000
B <sub>48</sub>	Quilomicras, VLDL, IDL	180.000
C-I	Quilomicras, VLDL, IDL, HDL	6.500
C-II	Quilomicras, VLDL, IDL, HDL	10.000
C-III	Quilomicras, VLDL, IDL, HDL	10.000
D	HDL <sub>3</sub>	20.000
E <sub>2-4</sub>	Quilomicras, VLDL, LDL, HDL	34.000
F	HDL	30.000
G	VHDL	75.000
H	Quilomicras, VLDL	43.000

**Quadro 9.** Apolipoproteínas do plasma e respectivo peso molecular.



**Figura 20.** Separação de lipoproteínas por electroforese em meio de agarose. Indicam-se entre parênteses as correspondentes fracções separadas por centrifugação.

<b>1. Cofactores enzimáticos</b>	
Apo C-II	lipoproteína-lipase
Apo A-I	lecitina-colesterol-acetiltransferase
<b>2. Pontos de ligação da Lp para os receptores celulares</b>	
Apo A-I	para os receptores HDL
Apo B-100	para os receptores LDL
Apo E	para os receptores dos quilomicra- "remnants"
<b>3. Trocadores de proteínas por lípidos entre as partículas lipoproteicas.</b>	
<b>4. Proteínas estruturais para a biossíntese das Lps</b>	
Apo A-I	para o HDL
Apo B-100 e Apo B-48	para as quilomicras, VLDL, IDL e LDL

**Quadro 10.** Funções das apolipoproteínas plasmáticas [75].

Nos humanos encontramos apolipoproteína A, que se subdivide em três fracções: Apo A-I, Apo A-II e Apo A-IV. As apolipoproteínas apo A-I e apo A-II constituem a maior parte das proteínas da HDL, aproximadamente 90% da massa proteica das mesmas. A razão peso da Apo-I/peso da Apo-II parece ser consideravelmente maior na HDL<sub>2</sub> do que na HDL<sub>3</sub>. Embora a Apo A-I e Apo-II constituam a maior fracção proteica das HDL, coexistem na sua zona de densidade outras apoproteínas:

Apo B,  
Apo C (Apo C-I, Apo C-II e Apo C-III)  
Apo D  
Apo E  
Apo F

De notar que a maior concentração de apo A-I está localizada na zona de densidade de HDL<sub>2</sub>. Apo A-I e apo A-II também se encontram nas quilomicras linfáticas [76], assim como em HDL recém sintetizada no intestino. Podem também encontrar-se traços de apo A-I nas VLDL. Apo A-I e Apo A-II são sintetizados como pre-proteínas no fígado e intestino[77], podendo ser catabolizadas primariamente pelo fígado e rins. A pré-apo A-I (isoproteína apo A-I) é encontrada nas quilomicras linfáticas, assim como nas Lps do plasma. Por clivagem do prosegmento seis aminoácido converte-se na forma madura de apo A-I, (apresentando esta as isoproteínas A-1,3,4,5.

A Apo A-I madura é constituída por um único polipeptídeo com 243 aminoácidos. Não contém hidratos de carbono e tem massa molecular de aproximadamente 28.000. É uma proteína referida como activadora da lecitina-colesterol-acil-transferase (LCAT), enzima responsável pela esterificação do colesterol no plasma. As formas maduras de Apo-I, como apo A-I<sub>3</sub> e apo A-I<sub>4</sub>, por desamidação convertem-se em Apo A-I<sub>5</sub> [73].

Apolipoproteína A-II. A apolipoproteína A-II tem massa molecular de aproximadamente 17.000 e é constituída por duas cadeias iguais de 77 aminoácidos unidas por uma ligação bissulfureto. Não contém hidratos de carbono e foi referida como activadora da lipase hepática. Apo A-I e apo A-II podem ligar-se em solução aquosa. Podem também combinar-se com a lecitina formando complexos proteína-fosfolípido com densidade semelhante às HDL [73].

Apolipoproteína A-III. A apolipoproteína A-III, também chamada apolipoproteína D, constitui menos de 5% das proteínas das HDL, com um massa molecular de 20.000.

Apolipoproteína A-IV. É uma glicoproteína com massa molecular de aproximadamente 46.000. Constitui 10-13% das proteínas das quilomicras, acreditando-se que desempenhem um papel importante no metabolismo das Lps [73]. Constitui também entre 24 a 30% das lipoproteínas VLDL [78].

Apolipoproteína B [79]. Esta apoproteína faz parte da constituição das quilomicras, VLDL, partículas "remnant" derivadas das Lps ricas em TG, LDL e [Lp(a)]. A apolipoproteína apo B é formada por duas macromoléculas fisicamente separáveis, a apo B-100 e a apo B-48.

Apolipoproteína B-100. Maior que a apo B-48, tem origem hepática e encontra-se no plasma humano na concentração de cerca de 90 mg/dl. Constitui mais

de 90% da massa proteica das LDL e aproximadamente 1/3 da massa proteica das VLDL [80]. Esta apolipoproteína nas LDL constitui o sítio da ligação reconhecido pelo receptor na membrana celular [75]. É de acentuar que um dos papéis mais importantes das apolipoproteínas é a sua função como ligantes na superfície das partículas das Lps, permitindo a sua adesão às células receptoras.

Apolipoproteína B-48. De massa molecular inferior à apo B-100, é produzida pela mucosa intestinal e encontra-se nas quilomicras e quilomicras remnants [81], constituindo apenas 5% da sua massa proteica.

Apolipoproteínas C. O grupo das apolipoproteínas C é formado por 3 pequenas proteínas com massa molecular entre 7.000 e 10.000, (apo C-I, apo C-II e apo C-III) e constituem aproximadamente 50% da fracção proteica das VLDL. No plasma de pessoas saudáveis, as apolipoproteínas C distribuem-se igualmente entre as HDL e LDL. São sintetizadas quase totalmente no fígado, sendo apenas 5% sintetizadas no intestino [82].

Apolipoproteína apo C-I. É a mais pequena das apolipoproteínas C, com massa molecular 7.000 [83]; constitui aproximadamente 10% das proteínas das VLDL e 2% das proteínas das HDL. É activadora da enzima LCAT.

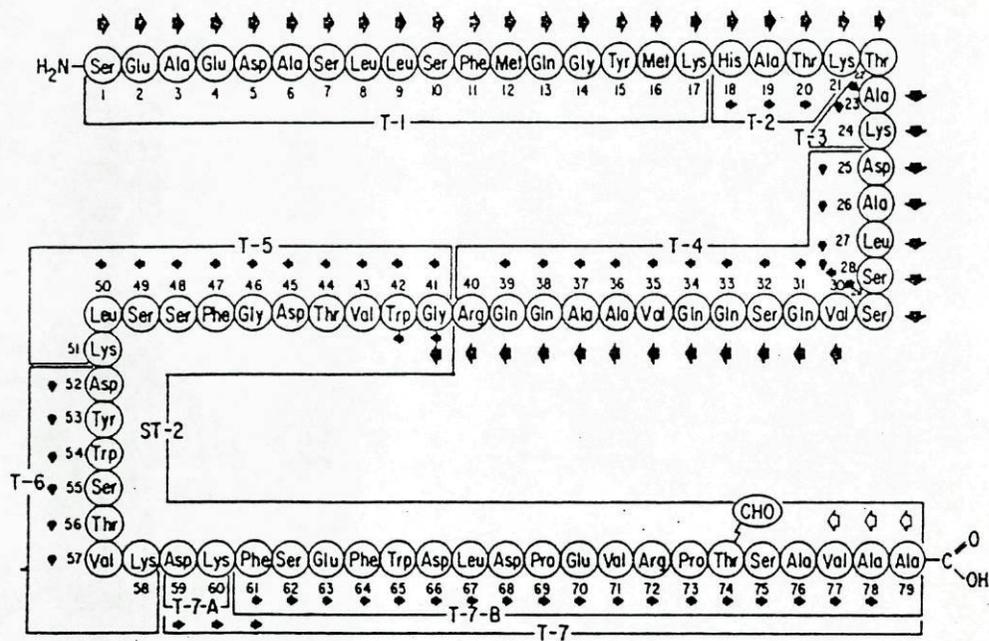
Apolipoproteína apo C-II. É a activadora da enzima LPL [83]. A apolipoproteína C-II entra na constituição das HDL2 (1 a 2%), HDL3 (1%) e VLDL (10%).

Apolipoproteína C-III. É constituída por uma cadeia polipeptídica com 79 resíduos de aminoácidos sendo o NH<sub>2</sub> terminal da serina e o COOH terminal da alanina. A massa molecular da apolipoproteína C-III é de 8.750. A apolipoproteína C-III é uma glicoproteína que contém uma mole de galactosamina e uma mole de galactose por mole de proteína, estando identificadas três formas polimorfas de apo C-III, conforme contêm 1 ou 2 moles de ácido siálico por mole de proteína [88]. Na Fig. 21 representa-se a sequência dos aminoácidos da apolipoproteína apo C-III.

Apolipoproteína E. Encontra-se nas pessoas saudáveis fazendo parte das apoproteínas das VLDL e HDL2. É uma glicoproteína rica em arginina com massa molecular de 35.000 [84]. É sintetizada no fígado. Em indivíduos normais, as quilomicras e as VLDL-"remnants", são rapidamente removidas da circulação por meio dos receptores hepáticos ou convertidas em LDL.

A apolipoproteína E, presente nas Lps-remnants, desempenha um papel essencial no metabolismo hepático das partículas "remnants", visto que esta apolipoproteína é reconhecida com grande afinidade pelos receptores hepáticos envolvidos na depuração dos "remnants". Por meio de electroforese por focagem isoléctrica, a apolipoproteína E humana, pode ser separada em três isoformas principais: E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub> e E<sub>4</sub>, e num número menor de isoformas glicosoladas. A apo E<sub>4</sub> é mais básica e a apo E<sub>2</sub> a mais ácida. A apo E<sub>3</sub> é a isoforma mais frequente. A apo E<sub>2</sub> e a apo E<sub>4</sub> têm actividade reduzida para se ligarem aos receptores lipoproteicos, sendo a causa de disbetalipoproteinemias [85].

**Metabolismo das Lps.** As quilomicras são sintetizadas no intestino como resposta a uma alimentação que contenha lípidos, e servem para transportar as gorduras de dieta: triglicéridos e o colesterol absorvido pelo intestino. São partículas grandes que contêm cerca de 90 % de TG e 2% de apo Lps. Para se unir as gorduras de dieta, cerca de 100 g/dia, o intestino sintetiza um grande número de apolipoproteínas: apo B (apo B-48 e apo B-100), apo A-IV, apo E, apo A-I, apo A-II e apo C-I e apo C-II. Duranté a metabolização das quilomicras, estas cedem apo E e



**Figura 21.** Sequência de aminoácidos da apolipoproteína C [88].

## Apo C às HDL.

As quilomicras são segregadas para o sistema linfático e entram na circulação sanguínea, onde a maior parte dos TG são hidrolizados pela LPL, uma enzima que se encontra na superfície das células endoteliais. Durante este processo as partículas perdem cerca de 96% da sua massa, principalmente TG e apoproteínas A e C. A partícula resultante, mais pequena, designada por quilomicra "remnant", é mais rica em colesterol, tendo como maiores constituintes das suas apolipoproteínas a apo E e a apo B. As quilomicras "remnants" são rapidamente depuradas da circulação pelo fígado. As apo Lps desempenham um papel importante neste processo. A apo C-II é o cofactor necessário para a actividade da LPL, e outras apo Lps C aparentemente inibem a depuração hepática dos quilomicras, facilitando, por isso uma remoção adequada dos TG antes das partículas serem depuradas. As apo E desempenham aparentemente a função de alvos nos receptores de quilomicras "remnants" que regulam uma rápida clearance das partículas "remnants".

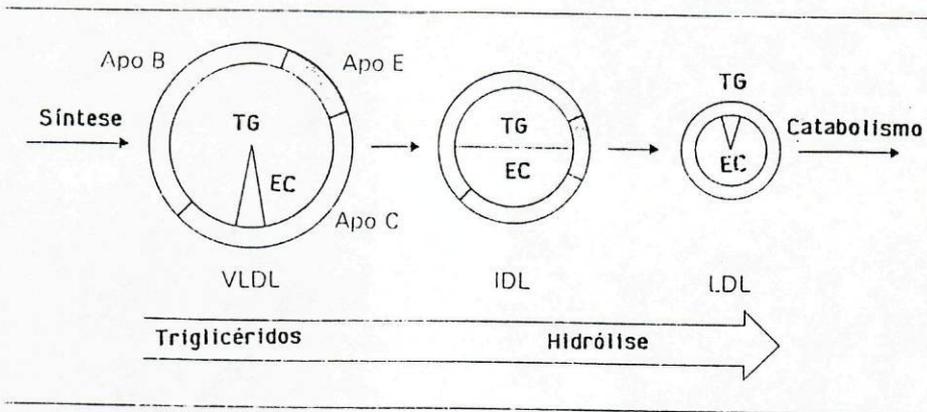
O intestino também segrega "VLDL intestinais" ou "quilomicras pequenas" em jejum, ou após refeições não ricas em gordura. Nos ratos, estas partículas constituem cerca de 10 ou 20% das VLDL circulantes e dos valores de TG, contudo provavelmente, serão metabolizados como as quilomicras. Existem duas espécies de VLDL: as sintetizadas pelo fígado e as VLDL ricas em TG que se formam a partir das quilomicras. As VLDL, sintetizadas no fígado e de seguida segregadas para a circulação, servem para transportar os TG sintetizados endogenamente. Contêm cerca de 50% dos TG e as apoLps associadas são a apo B-100, apo C e apo E.

As VLDL ricas em TG são hidrolizados na superfície das células endoteliais pela LPL produzindo partículas VLDL "remnants" ricas em colesterol que são posteriormente metabolizadas em IDL. As VLDL "remnants" podem ser removidos pelo fígado, e as IDL convertidas em LDL [86]. Os detalhes da conversão de VLDL em LDL não são totalmente conhecidos mas envolvem uma hidrólise progressiva das VLDL, enriquecidas em ésteres de colesterol, e uma perda virtual de todas as apo Lps, excepto apo B-100 (Fig.22).

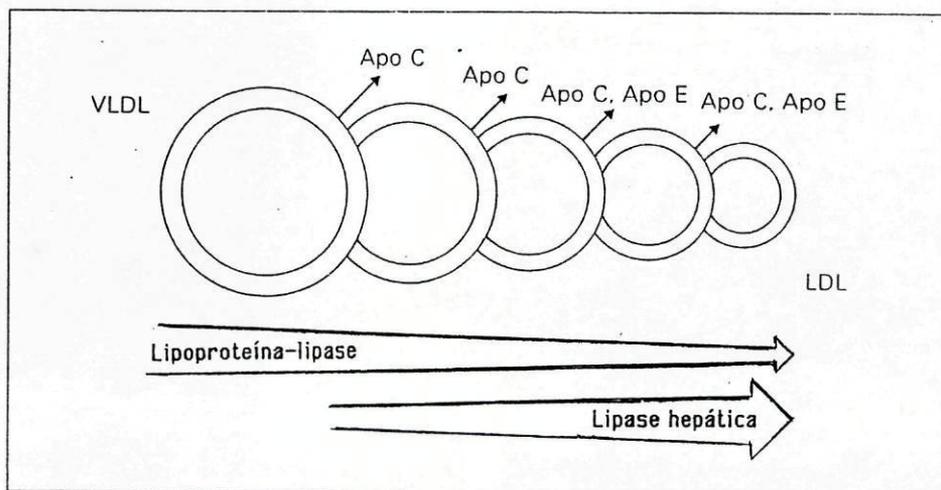
Na hidrólise dos TG e alterações na constituição das apoLps durante a passagem na metabolização de VLDL a LDL intervém a LPL e a LH (Fig. 23). Pensa-se que a LPL é a principal enzima responsável pela hidrólise dos TG actuando no princípio, enquanto a LH actua na transformação de IDL em LDL. Durante esta conversão, há saída das apolipoproteínas C e E para as HDL [87]. A LH existe na superfície das células hepáticas endoteliais, e têm além da sua actividade de lipase, actividade fosfolipásica [86].

As LDL transportam a maior parte do colesterol circulante no homem, e fornecem colesterol aos tecidos periféricos para a biossíntese das membranas e esteróides. As LDL são normalmente entregues aos tecidos via receptores LDL. Os receptores LDL reconhecem a apo B e após penetração das LDL, a LDL-apo B é degradada nos lisossomas. Metade ou mais do catabolismo das LDL dá-se nas células do parênquima hepático; a parte final verifica-se nos tecidos periféricos [86].

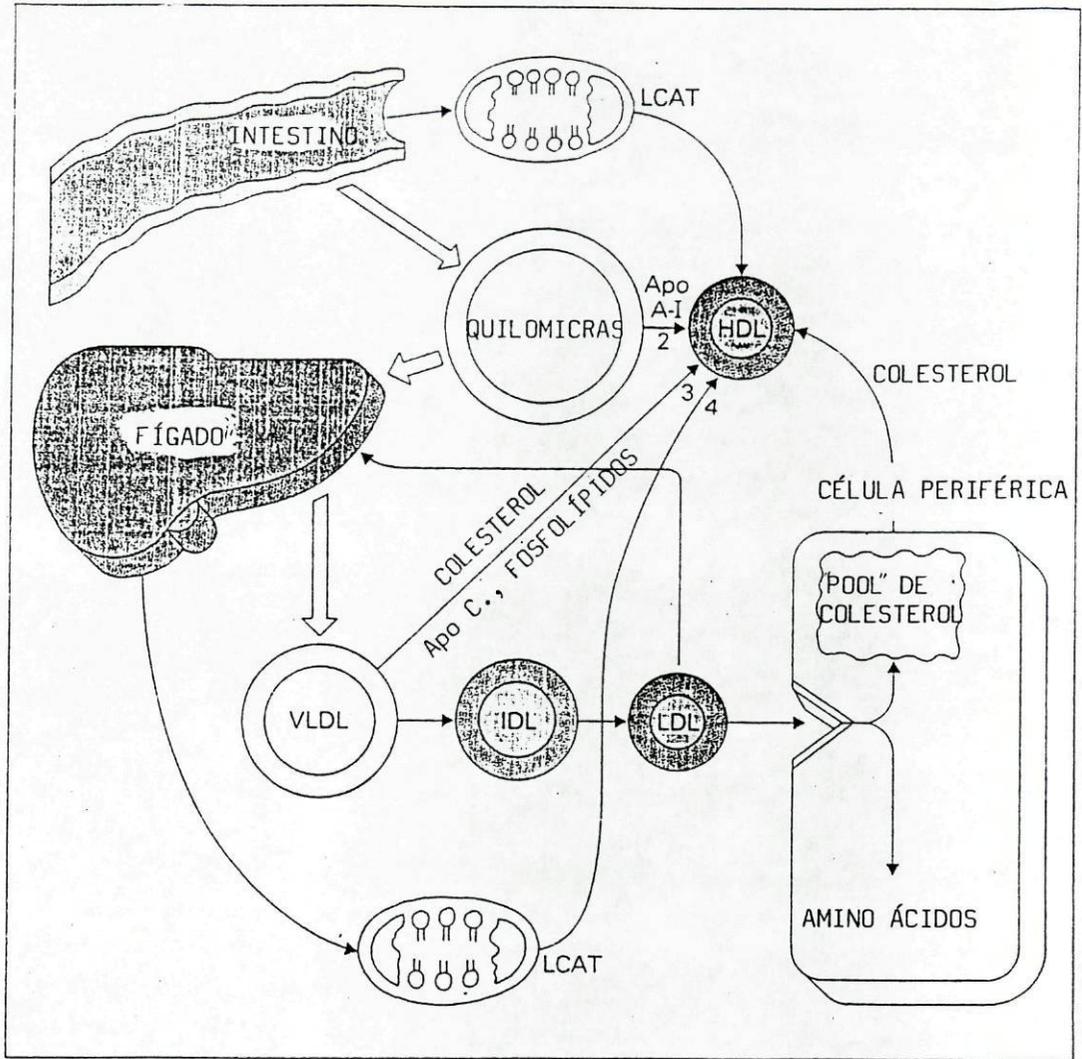
As HDL são principalmente sintetizadas no fígado e no intestino. No estado nativo apresentam uma estrutura discoidal contendo apo A-I, colesterol, fosfolípidos e apo E. As partículas de HDL nascentes, rapidamente acumulam colesterol das células de tecidos periféricos e de outras Lps, e convertem-se em partículas de HDL esféricas maduras, devido à acção da LCAT que cataliza a esterificação do colesterol na circulação, de onde resulta a penetração do novo colesterol esterificado para o



**Figura 22.** Representação esquemática da passagem de VLDL a IDL e de IDL a LDL [87].



**Figura 23.** Intervenção da LH na passagem de VLDL para LDL e saída da apo C e apo E durante este processo de conversão [87].



**Figura 24.** Síntese das HDL. As HDL são sintetizadas no intestino e no fígado e captam colesterol das VLDL e das células periféricas devido à ação da LCAT; são-lhe também incorporadas partículas apo A das quilomicras e apo C e fosfolípidos das VLDL [22].

interior das partículas de HDL.

Como já foi dito, as HDL participam no catabolismo das Lps ricas em triglicéridos, captando as apo C-II e apo E cedidas por estas. Parece, também, que as HDL estão envolvidas num processo conhecido por "transporte inverso do colesterol". Neste processo, as HDL recebem o colesterol dos tecidos periféricos, provavelmente na forma de colesterol não esterificado das membranas celulares, e transportam-no de volta para o fígado para reutilização ou degradação. Esta remoção do colesterol dos tecidos pode em parte ser facilitada pela alta afinidade dos receptores de HDL na membrana celular. Muitos mecanismos podem ser importantes para o retorno deste colesterol para o fígado.

Uma parte do colesterol esterificado é transferido do HDL para Lps de densidade mais baixa, e portanto tomadas pelos receptores hepáticos apo E ou receptores hepáticos LDL. Esta transferência é possivelmente catalizada por uma proteína de transferência específica que facilite a remoção dos ésteres de colesterol do núcleo das partículas de HDL e os leve para as VLDL ou LDL. A tomada directa dos ésteres de colesterol de HDL sem a tomada das partículas inteiras de HDL pode também contribuir definitivamente para a remoção hepática do colesterol dos tecidos. Não se sabe ainda se no reconhecimento das partículas de HDL pelos receptores HDL estão envolvidas uma ou mais apo Lps. Na Fig. 25 podemos ver um resumo esquemático do metabolismo das Lps [75].

#### 4 - Triglicéridos

Os TG são moléculas lipídicas derivadas da dieta lipídica ou de síntese endógena. São transportados nas Lps do intestino e fígado para combustíveis dos tecidos, ou são armazenadas no tecido adiposo. Os TG fazem parte, principalmente, da constituição das VLDL após uma noite de jejum.

**Metabolismo dos triglicéridos.** Os TG são hidrolisados por acção da LPL a diglicéridos e estes a monoglicéridos e ácidos gordos livres. Se os ácidos gordos livres forem constituídos por uma cadeia de dez carbonos ou menos, são imediatamente absorvidos pelas células intestinais e passam para a circulação portal, donde são transportadas para o fígado pela albumina. Os ácidos gordos de cadeia longa, uma vez absorvidos são imediatamente esterificadas nas células intestinais, onde os TG se combinam com a apolipoproteína apo B48 e alguma apoLp A, formando as quilomicras que vão para o ducto torácico.

As quilomicras recebem apo C-II, das HDL. Sabemos que as apoLp C-II são necessárias para activar a LPL das membranas celulares. Os TG das quilomicras são hidrolisados a ácidos gordos livres por acção da LPL. As quilomicras que não são hidrolisadas vão formar as quilomicras "remnants", mais pequenas e mais ricas em colesterol, que regressam ao fígado, onde são metabolizadas.

Lembramos que uma das teorias da patogenicidade da aterosclerose, sugere que as quilomicras "remnants" são altamente aterogénicas, o que poderá explicar o facto de populações que consomem mais gorduras na dieta, terem maiores taxas de DCV. Assim como um excesso de quilomicras "remnants" é também um factor de risco [90].

O fígado desempenha um papel fundamental no metabolismo dos TG. Depois duma alimentação rica em gorduras, os ácidos gordos livres libertados pela LPL passam para o fígado, quer ligados a albumina, quer esterificados no interior das

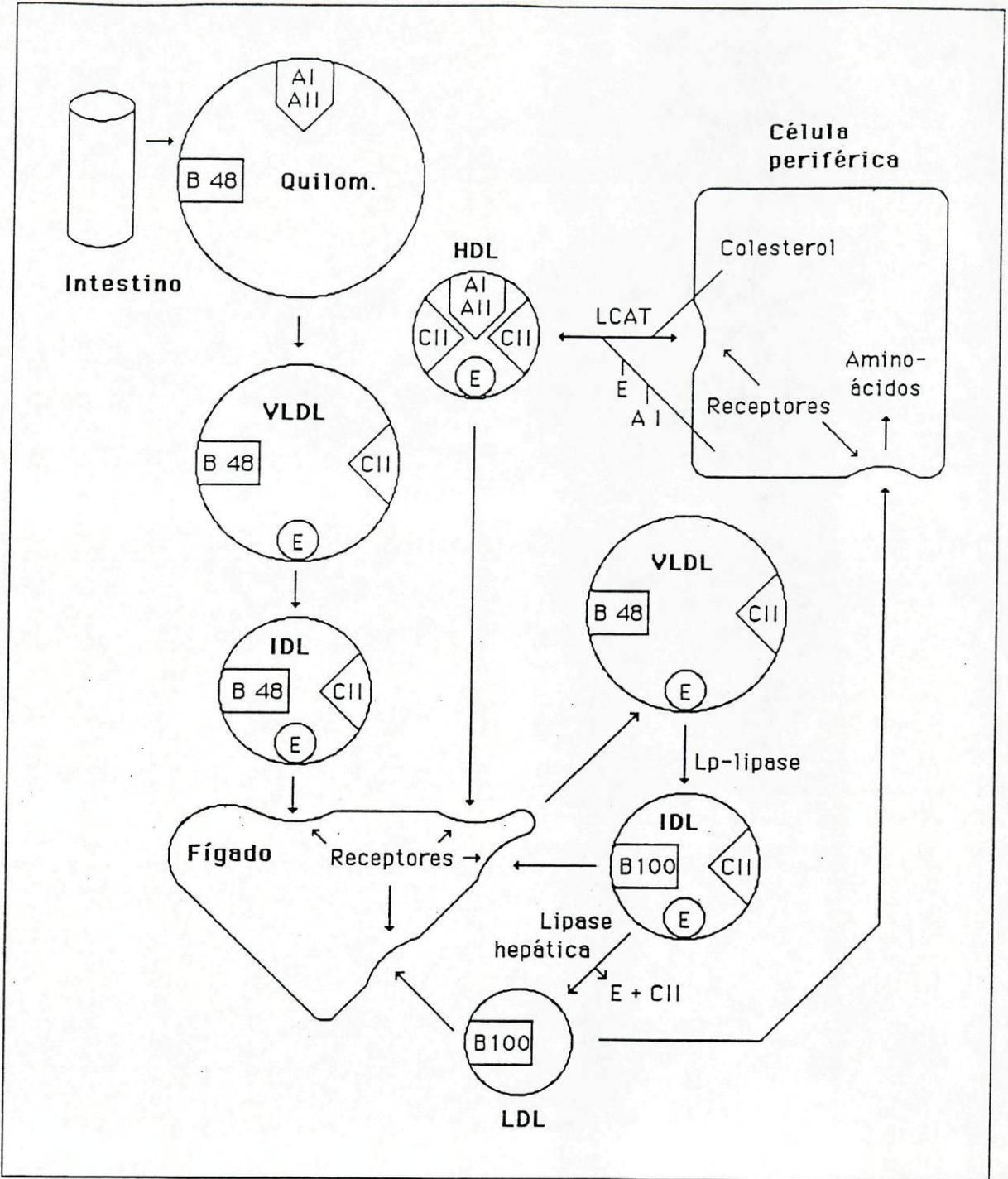


Figura 25. Esquema do metabolismo das lipoproteínas.

quilomicras. Todos os ácidos gordos livres que chegam ao fígado são imediatamente reesterificados a TG. Em algumas circunstâncias, numa elevada ingestão de ácidos gordos saturados resulta um aumento da produção de colesterol. O fígado também converte o excesso de calorias dos H.C., proteínas e álcool em ácidos gordos que são convertidos em TG; para tal, o fígado produz VLDL, constituídas na maior parte por TG, apo B100, apo C, apoE e apoA.

A apo C-II e a LPL, novamente, removem os TG das VLDL e convertem as VLDL em VLDL "remnants" que são transformadas em IDL e estas em LDL que regressam ao fígado, ou vão para as células extra-hepáticas, ou vão para as células "scavenger". As apo E parecem ser necessárias para activar o mecanismo que converte IDL em LDL. Na maioria dos indivíduos, em jejum, com valores elevados de TG, encontramos concentrações elevadas de VLDL [91].

Se os valores de colesterol forem normais, as opiniões são muito divergentes quanto à capacidade de previsão de risco de qualquer doença para concentrações de TG inferiores a 250 mg/dl. Sabemos, também, que existem indivíduos com valores de TG normais e que no entanto apresentam outras alterações graves quer na parte lipídica quer na parte proteica das Lps. Valores de TG superiores a 500 mg/dl podem prognosticar pancreatites, e são sinónimos de hipertrigliceridemia [92].

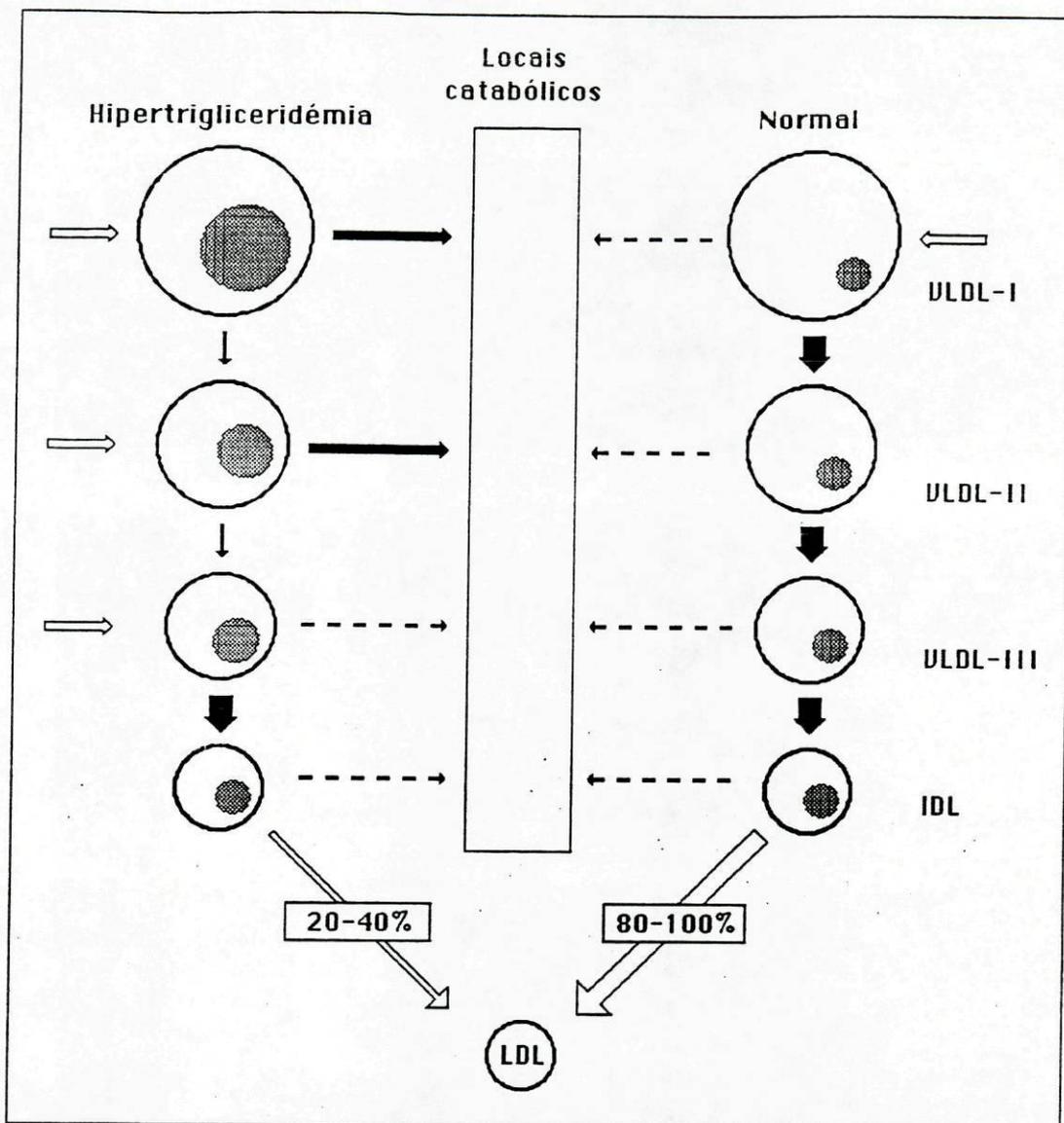
**Diferenças estruturais e metabólicas das VLDL de indivíduos normais e indivíduos com hipertrigliceridemia.** Eisenberg [93] realizou um estudo em que comparou a constituição das VLDL de indivíduos normais com as VLDL de indivíduos com hipertrigliceridemia (HTG). As VLDL dos indivíduos com HTG apresentam menos proteína, mais colesterol livre e esterificado e menos TG, não se verificando alterações nas concentrações dos fosfolípidos; estas alterações estão forte e significativamente associadas aos valores de TG do plasma. Verificou-se também que os valores alterados se normalizam com o restabelecimento dos valores de TG normais, com o auxílio de terapia apropriada.

Posteriormente, as VLDL de indivíduos com HTG foram fraccionadas, em três grupos, conforme o seu tamanho e densidade: grupos I, II e III. Concluiu-se que as maiores alterações se verificavam na VLDL-I, em que a razão éster de colesterol/proteínas é 2,5 vezes superior nos indivíduos normais; as VLDL II são moderadamente anormais e as VLDL-III são quase normais. Também se verificou que as VLDL de indivíduos com HTG possuem uma concentração 5 a 6 vezes maior de apolipoproteína apo E, relativamente às VLDL de indivíduos normais.

No metabolismo das VLDL de indivíduos com HTG a taxa de deslipidação é lenta, com uma taxa de síntese aumentada e uma diminuição na taxa de transporte dos TG; observa-se também uma diminuição na conversão de VLDL a LDL, o que pode ser atribuído, sem confirmação até ao momento, ao excessivo conteúdo de ésteres de colesterol das VLDL dos indivíduos com HTG.

Os trabalhos de Eisenberg também sugerem que nem as VLDL-I, nem as VLDL-II originam LDL, sendo degradadas por um processo independente. Apenas as VLDL-III nos indivíduos com HTG se transformam em LDL (Fig. 26).

As VLDL-III parecem ser sintetizadas independentemente e originam IDL e LDL [93]. Não se verificaram diferenças estruturais ou de composição nas proteínas, TG, ésteres de colesterol livre, fosfolípidos, apo B, apo E e apo C, entre as IDL de indivíduos normais e de indivíduos com HTG, não se sabendo ainda se existem diferenças no metabolismo das IDL de indivíduos normais e de indivíduos com HTG.



**Figura 26.** Efeitos do excessivo transporte de lípidos no metabolismo em hipertrigliceridemia (HTG). No homem normal, verifica-se conversão quase total de VLDL-I em LDL, sendo removidas apenas algumas partículas. Em HTG a situação é diferente: as VLDL-I e VLDL-II tornam-se excessivamente ricas em ésteres de colesterol, não conseguem completar o processo de conversão em IDL e são removidas do plasma antes que se formem IDL e LDL, o que explica a baixa percentagem de conversão de VLDL em LDL.

As LDL de indivíduos com HTG são mais densas e mais pequenas, contêm mais apo B e TG e menos colesterol e ésteres de colesterol do que as LDL de indivíduos normais. As LDL de indivíduos com HTG não se ligam bem aos receptores celulares. Também se verificam diferenças na constituição das HDL de indivíduos normais e de indivíduos com HTG. A HDL<sub>3</sub> destes últimos contém menos ésteres de colesterol sendo mais densas e mais pequenas que as HDL de indivíduos normais, (verificando-se muito pequenas variações na constituição das apolipoproteínas). A quantidade de colesterol removido do plasma pela HDL nos indivíduos com HTG parece ser substancialmente inferior ao àquele removido pela HDL de indivíduos normais.

Nos indivíduos com concentrações normais de TG, uma parte do colesterol e ésteres de colesterol é removida do plasma simultaneamente com a degradação irreversível de LDL e HDL. Nos indivíduos com HTG, a quantidade de colesterol removido do plasma por estas duas Lps é muito menor, devendo existir um outro mecanismo para remover as VLDL-I e VLDL-II (ricas em ésteres de colesterol), talvez realizado pelos macrófagos e células musculares lisas, o que poderá ser potencialmente aterogénico.

**Influência dos triglicéridos no desenvolvimento de DCV.** Apesar de todas as considerações anteriores, as opiniões ainda são divergentes quanto a influência dos valores elevados de TG no desenvolvimento de DCV. Os valores séricos dos TG estão associados positivamente ao risco de DCV na maior parte dos estudos realizados, sendo todavia controverso o seu interesse como valor prognóstico de risco independente. Esta especulação baseia-se na associação estatística de valores elevados de TG com outros factores de risco, como alterações nas concentrações de HDLc, CT, hipertensão e tabagismo; isto é, os TG em lugar de contribuir directamente para o risco de DCV serão o marcador para estilos de vida de risco, para características metabólicas modificadas ou para alterações genéticas das Lps. Se por um lado se verifica um aumento na concentração de TG nos sobreviventes de EM em relação aos indivíduos controlo, por outro lado observa-se a ausência de DCV em algumas casos de hipertrigliceridemia e quilomicronemia familiar. Não nos podemos ainda esquecer de doenças associadas com valores elevados de TG, como a diabetes e a doença coronária renal. Algumas hiperlipidemias primárias estão associadas ao aumento de risco de DCV [92].

Castelli [91], considera que os TG elevados são um forte factor de risco independente nas mulheres. Nos homens parece constituir um factor de risco apenas quando associado a concentrações de HDLc < 40 mg/dl. Os indivíduos que apresentem valores elevados da razão CT/HDLc, se tiverem valores elevados de TG, possuem elevado risco de DCV. São excepção os indivíduos com CT/HDLc < 3,5, o que, infelizmente, só se verifica em cerca de 10% dos indivíduos com TG elevados.

Brunzell e col [94] após um estudo de análise estatística multivariada, são de opinião que valores elevados de TG não são um factor de risco independente para DCV. Contrariamente, Hamsten e col [95], concluíram que valores elevados de TG, TG das VLDL e de VLDLc, estão independentemente ligados a EM em indivíduos novos. Também os trabalhos de Lewis e col [96] e ainda Carlson e col [97] concluem que os valores de TG são um factor de risco independente para o desenvolvimento de DCV. No entanto, nos trabalhos de Lewis e col. concluiu-se que as concentrações dos TG estavam correlacionadas com os índices de obesidade, ao passo que nos trabalhos de Carlson e col., os valores das concentrações dos TG não se relacionam com a obesidade.

Estudos mais recentes demonstraram existir uma relação entre as concentrações das sub-classes da HDL e da LDL com o metabolismo do colesterol:

a subfracção HDL<sub>2</sub>, que é considerada cardioprotectiva, esta negativamente correlacionada com a concentração de TG. Talvez a causa desta discrepância de opiniões seja a ampla variação dos valores de TG no mesmo indivíduo e de indivíduo para indivíduo, mesmo no estado de jejum. Outra causa é a imprecisão que existe na determinação das concentrações de TG [98]

Embora se ponha em dúvida se a HTG é um factor de risco independente, não existem dúvidas de que a existência de HTG será um indicador para outras doenças directamente relacionadas com DCV [99]. Concentrações séricas de TG entre 250 e 500 mg/dl, valor médio obtido para o mesmo indivíduo a partir de determinações feitas em diferentes ocasiões, podem ser normais ou podem significar risco de DCV, conforme o resultado do estudo de outros factores de risco no indivíduo (história familiar, hipertensão, tabagismo, obesidade, hiperlipoproteinemias secundárias). Só se existirem factores de risco adicionais é que se devem tomar providências para diminuir as concentrações de TG.

**Hipertrigliceridemias.** Nas hiperlipoproteinemias de tipo I verifica-se que as gorduras da dieta não podem sair da circulação sanguínea, do que resulta uma hiperquilomicronemia devido a ausência de apo C-II e LPL. Os indivíduos com esta alteração patogénica apresentam um plasma cremoso; se o plasma for refrigerado durante a noite, forma-se um anel na parte superior do tubo, ficando o infranadante claro. Nos casos raros de hiperlipoproteinemias tipo III, verificam-se alterações nas IDL.

A lipídemia familiar combinada é uma forma genética de hiperlipídemia na qual os valores de TG podem estar levemente elevados. Os membros duma família afectada, podem apresentar vários fenótipos lipoproteicos: tipo IV, em que se verifica aumento da concentração de VLDL; tipo IIA, em que se verifica aumento de LDL; tipo IIB, em que se verifica aumento de VLDL e LDL. O mesmo indivíduo pode apresentar em diferentes tempos, diferentes fenótipos, estando o aumento de risco relacionado com as mudanças verificadas no perfil lipoproteico. Nestes doentes deve-se tentar baixar os níveis lipídicos primeiramente com dieta, e se não resultar, com medicação [92].

Nos casos pouco comuns (que podem ser fatais) de HTG associada a quilomicronemia e a xantomias eruptivos, dores abdominais e pancreatite, pensa-se existir uma relação directa entre as concentrações dos TG e a doença, podendo evitar-se as consequências nefastas se se reduzir as concentrações de TG. Nestes casos, os valores de concentrações de TG podem estar mais relacionados com aterosclerose do que valores baixos de HDLc, apo A-I ou ainda valores aumentados de apo B [92].

São factores associados com as variações nas concentrações de TG séricos os seguintes:

- A obesidade, que é muitas vezes indutora de valores elevados de TG. Estes voltam aos valores normais, na maior parte dos casos, com a diminuição de peso.

- A ingestão excessiva de álcool que eleva as concentrações séricas de TG [99].

- O uso de certas drogas como tiazida, contraceptivos orais, estrogénios, adrenérgicos beta-bloqueadores, que elevam os níveis séricos de TG [92].

- A prática regular de exercício físico, que diminui a concentração dos TG

[100].

Segundo Friedlander e col. [101], as variações nas concentrações de TG podem ser explicadas por factores genéticos. As concentrações de TG aumentam com a idade, sentindo-se o seu efeito principalmente nas mulheres. Os valores de TG nas mulheres são inferiores aos dos homens, até à altura da menopausa, em que se verifica um aumento da concentração de TG [91].

**Doenças que podem induzir a subida da concentração de TG séricos:**

Diabetes mellitus  
Hipotireoidismo  
Doença renal (dialises repetidas, transplante, uremia e síndrome nefrótica)  
Doenças hepáticas  
Dislipoproteinemias  
Estados graves de stress  
Queimaduras  
Traumas  
Sepsia  
Enfarte de miocárdio  
Doença de Cushing  
Hipercalcemia  
Mieloma múltiplo  
Lupus eritematoso sistémico

Contrariamente, a injeção habitual de óleo de salmão e óleo de fígado de bacalhau diminuem as concentrações de TG [91].

É conveniente classificar as hiperlipoproteinemias primárias que estão associadas a valores elevados de TG em duas categorias:

- Os indivíduos com hiperlipoproteínia com valores de TG entre 500 e 1500 mg/dl (tipo IV, ou tipo V leve), acumulam quilomicras e pode surgir pancreatite; os valores de TG devem ser reduzidos, sem dúvida, para prevenir a pancreatite ou, com dúvidas para alguns, mas aceite por muitos, para prevenir DCV

- Os doentes com disbetalipoproteínia familiar (hiperlipoproteínia tipo III), possuem uma acumulação de "remnants" resultante do catabolismo diminuído das VLDL e das quilomicras. Os valores de colesterol e de TG estão elevados podendo por vezes, exceder os 500 mg/dl, o que torna necessário nestes casos, intervenção dietética e/ou farmacológica para diminuir a concentração de TG

Valores de TG superiores a 1.500mg/dl aparecem nas:

-Hiperlipoproteinemias tipo I que se manifesta na infância, e são caracterizadas por um aumento de quilomicras, devido a uma deficiência de LPL;

-Hiperlipoproteínia tipo V, mais frequente nos adultos, embora relativamente raras, caracterizam-se por um aumento de quilomicras e de VLDL e estão em muitos casos associadas a diabetes mellitus.

## 5 - Colesterol

### Concentrações séricas de colesterol e aterosclerose

Estudos baseados em experiências nos animais, investigações após morte, angiografias, e inúmeros estudos epidemiológicos permitiram concluir que as concentrações séricas de colesterol estão fortemente relacionados com DCV. Se se relacionar as concentrações de colesterol e a razão de risco de DCV, verifica-se que o aumento de risco se observa a partir de concentrações >200 mg/dl [102]; lembrando a Fig. 10, pode-se ver a relação entre as concentrações de colesterol e o risco relativo de DCV em três estudos epidemiológicos: "Framingham Heart Study", "Pooling Project" e "Israeli Prospective Study".

Keys e col. estudaram, entre 1958-1964, 12.763 homens com idades compreendidas entre 40 e 59 anos, em 7 países, que se apresentam por ordem crescente de mortalidade por DCV: Japão, Grécia, Jugoslávia, Itália, Noruega, E.U.A., Finlândia, e verificaram que o factor de risco mais evidente eram as concentrações elevadas do colesterol sérico [103].

Sabe-se que as concentrações de colesterol estão relacionadas com a hipertensão, diabetes mellitus e tabagismo.

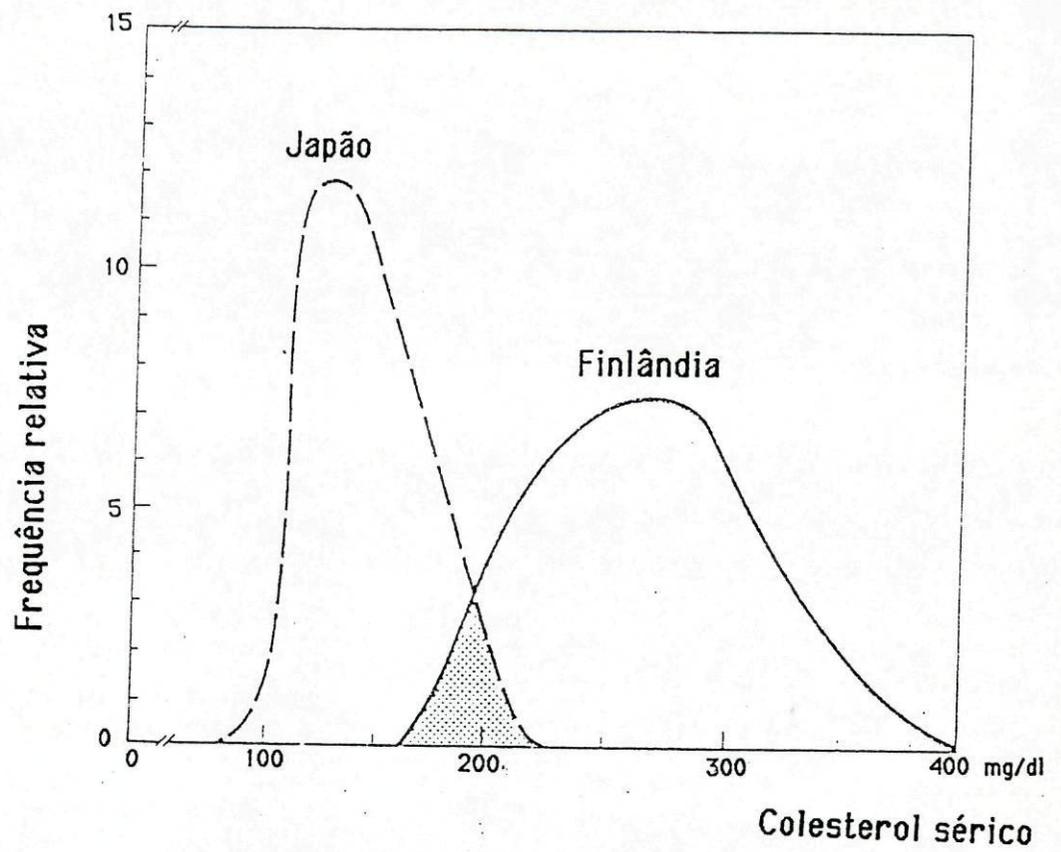
Os níveis medios da concentração de CT variam entre os diferentes países; na Fig. 27 pode ver-se a diferença de concentração de colesterol entre a população Japonesa e a população finlandesa, verificando-se, evidentemente, maior incidência de DCV na Finlândia.

No entanto, como sempre existem excepções: uma tribo no Quênia que se alimenta de leite, carne e sangue de camelos, embora apresente níveis de colesterol semelhantes aos da população masculina britânica, apresenta raros casos de DCV, talvez porque embora se verifiquem as condições necessárias para a doença, faltam os factores agravantes como obesidade, diabetes, tabagismo e hipertensão.

O estudo realizado por Miller e col [104] em Trindade, sobre indivíduos de raça africana, europeia e indiana, verificou que estes últimos eram mais sujeitos a DCV e apresentavam valores elevados de LDLc, e pressão sanguínea, e valores diminuídos de HDLc, verificando-se, também, a abstinência de alcool. Uma das causas poderá ser a elevada razão insulina/glucose encontrada nos descendentes dos indianos (superior à dos europeus) uma vez que a hiperinsulinemia leva à descida dos valores de HDLc e a elevação dos valores do TG séricos.

A concentração de colesterol está relacionada com a ingestão de gorduras saturadas. Se se ingerirem quantidades moderadas de gorduras saturadas, elas não exercerão uma influência muito grande no aparecimento de DCV; porém, uma ingestão demasiado elevada de gorduras saturadas é um dos factores que contribui para o aparecimento de DCV, sendo sempre aconselhável que mesmo indivíduos saudáveis reduzam, o mais possível, a ingestão excessiva de calorias e de gorduras saturadas [105]. Os trabalhos de Ueshima [106], entre muitos, confirmam que a concentração de colesterol está relacionada com o conteúdo calórico da dieta.

Populações com uma alimentação de baixo teor em gorduras saturadas possuem valores séricos de colesterol inferiores às populações que consomem dietas com elevada taxa de gorduras saturadas [107].



**Figura 27.** Comparação entre a distribuição média dos níveis séricos de colesterol no Japão e na Finlândia (OMS 1982) [103].

Quanto mais cedo se detectar se o indivíduo está em risco, maior será a hipótese de evitar a doença. Cresanta e col [108] recomendam que em crianças com concentrações de CT superiores a 185 mg/dl deverá realizar-se o doseamento das diferentes fracções lipoproteicas. O conhecimento da historia familiar facilita a identificação de risco de DCV [109].

A existência de doença isquémica cardíaca (DIC) nos pais faz prever hiperlipoproteinemia nos filhos e inversamente, hipercolesterolemia nos descendentes faz prever DIC nos pais e avós, verificando-se um aumento significativo de mortalidade coronária, nos parentes de crianças em idade escolar com hipercolesterolemia [118]. Diminuindo as concentrações séricas de colesterol, diminui a incidência de DCC [110] e DIC [111].

As concentrações séricas do colesterol aumentam com a idade, verificando-se os valores mais elevados nas mulheres entre os 50 e os 69 anos, a partir do qual os valores começam a decrescer. Nos homens, os valores mais elevados verificam-se entre os 40 e os 59 anos, a partir desta idade, os níveis séricos do colesterol normalmente diminuem.

Os efeitos nefastos da elevação da concentração de colesterol manifestam-se com maior intensidade até aos 65 anos, quer no homem quer na mulher, ficando normalmente a sua influência reduzida para idades superiores a 65 anos; são excepção os casos de angina de peito, no homem e EM na mulher.

#### **Influência das relações entre as concentrações de colesterol, LDLc e HDLc no desenvolvimento de DCV**

O significado de risco da concentração do colesterol está relacionado com as concentrações de HDLc e LDLc: concentrações normais ou pouco elevadas de CT, com valores de LDLc superiores aos normais e valores de HDLc inferiores aos normais são sinónimo de risco de DCV; contrariamente, concentrações elevadas de colesterol, com valores normais de LDLc e valores aumentados de HDLc são sinónimo de longevidade; no entanto concentrações elevadas de colesterol e LDLc são sinais de risco elevado, que estará aumentado se a concentração de HDLc estiver diminuída.

O colesterol, quer obtido por síntese endógena, quer de origem exógena a partir da dieta alimentar, desempenha papel importante na membrana celular, onde ajuda a manter uma fluidez apropriada para a correcta ligação das enzimas à membrana celular, e para o transporte de proteínas. Nas gónadas, na supra-renal e no fígado o colesterol sofre várias etapas oxidativas que aumentam a sua polaridade, o que permite que se movimente no meio aquoso do corpo.

No plasma, o colesterol existe sob a forma de Lps e na bile forma agregados micelares por acção dos sais biliares e dos fosfolípidos. No sangue 70% do colesterol circula sob a forma de LDLc [112].

Embora ainda existam opiniões muito divergentes quanto ao valor exacto a partir do qual as concentrações de colesterol são perigosas, trabalhos recentes, consideram como valores de risco as concentrações de colesterol superiores a 160 mg/dl. No entanto, a avaliação do risco de concentrações superiores a este valor deverá ser considerada em função das alterações verificadas nas concentrações de LDLc (aterogénico) e de HDLc (protector).

Segundo Kannel, os valores de HDLc eram melhores indicadores de futuro risco do que os valores de LDLc isolado, sendo a razão LDLc/HDLc o que melhor permitia prever DCV nos homens, seguida dos dados fornecidos pela razão CT/HDLc. Nas mulheres, o HDLc parece ser tão bom indicador de futuro risco como as razões CT/HDLc e LDLc/HDLc [102]

Nos E.U.A., as DCV são a maior causa de morbidade e mortalidade em ambos os sexos, tendo sido imprevistamente em 1988 maior a proporção de mortes em mulheres (52%), do que em homens (46%), tendo gasto o estado cerca de 9 bilhões de dólares nas mulheres com os casos de DCV [113].

Mulheres com concentração de CT superior a 265 mg/dl apresentam taxas de mortalidade por DCV cerca de três vezes superior à apresentada por mulheres com concentração de colesterol inferior. As concentrações de CT e HDLc parecem constituir igual prognóstico de risco para os homens e para as mulheres. As concentrações elevadas de LDLc, embora independentes de outros factores de risco, são fortes indicadores de futuro risco independentes de DCV para os homens, parecendo não o ser para as mulheres.

### **Hipercolesterolemia familiar (HF)**

A regulação dos receptores hepáticos de LDL é normalmente controlada por 2 genes, um de origem paterna e outro de origem materna. Se um dos genes não funciona, o indivíduo será portador duma hipercolesterolemia heterozigótica, em que as velocidades de depuração das VLDL "remnants" e LDLc são demoradas, o que leva a um aumento significativo das concentrações de LDLc e CT no soro. Se os dois genes não funcionarem, o indivíduo será portador duma hipercolesterolemia homozigótica, tendo como resultado concentração de colesterol, aproximadamente, quatro vezes superiores às encontradas em indivíduos normais [125].

Muitas aberrações foram detectadas neste processo. As células de alguns doentes não sintetizam nenhuma proteína no receptor capaz de qualquer detecção imunológica, outras, sintetizam a proteína, mas a glicosilação é defeituosa, ficando o local de inserção da membrana bloqueada, outros realizam a glicosilação duma forma defeituosa, o que origina uma interligação das LDL deficiente.

Nas disbetalipoproteinemias primárias ou hiperlipoproteinemia tipo III, observa-se uma acumulação de Lps ricas em colesterol no plasma, que são na realidade quilomicras "remnants" e VLDL "remnants", enriquecidas em apoLps E. A análise da apo E, na hiperlipoproteinemia, tipo III, revelou um defeito na sequência de aminoácidos, que altera a sua carga e interfere com a sua capacidade para interagir com os receptores proteicos [112].

Outros estudos evidenciaram uma forte influência genética nas concentrações de HDLc, quer nas mulheres quer nos homens. No entanto, é de referir, que na população americana, apenas uma percentagem inferior a 2% possui defeitos genéticos, devendo os factores do meio ambiente influenciar, conjunta ou separadamente dos factores genéticos, as concentrações dos lípidos e Lps.

### **Factores que influenciam as concentrações de colesterol**

**Regimes dietéticos.** Se uma dieta com uma razão de gorduras poli-insaturadas/gorduras saturadas igual a 0,25, for substituída por uma dieta com uma razão

igual a 4, verifica-se uma descida na concentração sérica do colesterol de cerca de 23%, verificando-se maior queda nas concentrações de LDLc, embora também se observem reduções substanciais nas concentrações de VLDLc e HDLc. Regimes dietéticos vegetarianos diminuem os níveis séricos de colesterol, visto que grandes quantidades de esteróides vegetais interferem na absorção do colesterol e reduzem as suas concentrações séricas [114].

Já foi referido que a constituição da dieta tem importância nos níveis dos lípidos séricos, tanto nos homens como nas mulheres. No entanto, o decréscimo obtido nas concentrações de HDLc, LDLc e CT, com a ingestão duma dieta pobre em colesterol e/ou com a ingestão duma dieta com a razão ácidos gordos polinsaturados/ácidos gordos saturados elevada, é menor nas mulheres do que nos homens. No entanto, temos que ter em conta que as DCV não são primariamente doenças nutricionais, tendo a alimentação influência diferente de indivíduo para indivíduo [32].

A obesidade pode influenciar nefastamente os lípidos séricos, induzindo a diminuição da concentração de HDLc e aumento da concentração de CT e LDLc, quer no homem quer na mulher. O seu efeito parece ser independente do consumo de álcool, cigarros e uso de estrogénios. O "body mass index" está associado negativamente com a absorção de colesterol. Quanto maior for a quantidade de colesterol absorvido da dieta, menor é a taxa da síntese de colesterol [114].

Muitos estudos mostram que as taxas de DCV podem ser reduzidas com a diminuição de peso, com o aumento de actividade física e com a diminuição ou eliminação do hábito de fumar.

**Exercício físico.** A prática de exercício físico reduz levemente os valores de CT e LDLc, aumentando consideravelmente os valores de HDLc. É conveniente que as mulheres pós-menopausa, realizem exercício físico regularmente, visto que a actividade física parece minimizar os efeitos nefastos da menopausa sobre as concentrações lipídicas e lipoproteicas [119].

**Ingestão de álcool.** Vários estudos permitiram concluir que a ingestão moderada de álcool têm efeito protector contra doenças coronárias, tanto na mulher como no homem, fazendo-se sentir principalmente o seu efeito na elevação das concentrações de HDLc.

**Tabagismo.** É desconhecido o mecanismo biológico pelo qual o tabagismo actua sobre o mecanismo lipídico. No entanto, sabemos que aumenta moderadamente as concentrações de LDLc e CT diminuindo consideravelmente as concentrações de HDLc, fazendo-se sentir o seu efeito mais intensamente nas mulheres.

**Uso de contraceptivos orais e de estrogénios.** Se o uso de contraceptivos orais provou ter efeitos nefastos sobre o metabolismo lipídico, quer aumentando as concentrações de LDLc, quer diminuindo as concentrações de HDLc, consoante o tipo de formulações, efeito totalmente contrário se verifica com o uso de estrogénios após menopausa. Embora se pense que os estrogénios elevam as concentrações de HDLc, as mulheres que tomam medicação estrogénea após menopausa, apresentam uma sensibilidade igual às outras mulheres para os outros factores de risco.

Mathews e col. publicaram um trabalho em que compararam a subida dos níveis de CT em mulheres pós-menopausa que não tomam estrogénios com as que os tomam, concluindo que se verificava uma subida de 0,25 mmol/l (9,68 mg/dl) na concentração de CT nas mulheres que não tomavam estrogénios e de 0,23 mmol/l

(8,9 mg/dl) nas mulheres que utilizavam estrogénios. Estes resultados são postos em causa por Allen e col., que afirmam que as diferenças verificadas não são significativas [115].

**Deficiências hormonais.** Uma deficiência de tiroxina pode ser causadora duma deficiente actividade dos receptores de LDLc, originando uma descida nas taxas de catabolismo das LDL. Uma terapia apropriada resolve estas alterações patológicas. Nos casos de diabetes também se verifica hipercolesterolemia, embora com menos intensidade do que hipertrigliceridemia [112].

### **Metodologia para a determinação do colesterol sérico**

Os métodos usados não poderão ter uma variação de  $\pm 5\%$  do valor real, esperando-se que a partir de 1990 esse desvio não seja superior a  $\pm 3\%$ , devendo todos os métodos ser padronizados em relação ao método de Abell-Kendall [116]. Evidentemente que o resultado do soro controlo diário, deverá estar, preferencialmente, entre os limites de confiança. No entanto, podem aceitar-se os resultados entre os limites de confiança e os limites de controlo, porém as análises nunca poderão sair, se o resultado do soro controlo, estiver fora dos limites de controlo.

Enquanto não houver padronização de métodos, será sempre preferível que o doente realize o doseamento do CT no mesmo laboratório, uma vez que a variação na precisão intralaboratório, será sempre menor que as flutuações de coeficiente de variação entre laboratórios [32].

### **Valores de risco da concentração de colesterol**

Os valores de risco da concentração de colesterol, variam de país para país, mas em todos os países, o risco é maior para os indivíduos com maior concentração sérica de CT, no entanto, níveis demasiado baixos de CT podem ser sintoma de doenças cancerosas. Existem muitos trabalhos que estabelecem uma relação inversa entre as concentrações de colesterol sérico e o risco de cancro em geral e do colon em particular. Outros autores sugerem que é o próprio tumor que origina níveis baixos de colesterol, sendo esta opinião contrariada pelos trabalhos de Neugut e col. [114], que encontraram uma associação entre valores séricos elevados de colesterol e cancro do cérebro.

No entanto, não nos podemos esquecer de que no "Framingham Study" muitos dos casos de DCC se verificaram para valores de CT inferiores a 244 mg/dl, daí que a classificação de risco não se poderá basear apenas nas concentrações de CT

Trabalhos recentes [32] consideram concentrações de colesterol superiores a 170 mg/dl de risco moderado, e concentração de colesterol superiores a 185 mg/dl de risco elevado, para idades compreendidas entre os 2 e os 19 anos. Para indivíduos, entre 20 e 29 anos, consideram de risco moderado concentrações superiores a 200 mg/dl e de risco elevado concentrações superiores a 220 mg/dl. Concentrações superiores a 220 mg/dl serão de risco moderado e concentrações superiores a 240 mg/dl serão de risco elevado para indivíduos com idades entre 30 e 39 anos.

Para indivíduos com idades superiores ou iguais a 40 anos, considera-se com risco moderado concentrações de CT superiores a 240 mg/dl e de risco elevado

concentrações superiores a 260 mg/dl. Para os indivíduos com concentrações entre 200 e 239 mg/dl e concentrações superiores a 240 mg/dl de colesterol sérico que possuam mais de dois factores de risco, recomenda-se a determinação da concentração de LDLc. Aos indivíduos com concentrações de risco é recomendado tratamento dietético e só se este não resultar é que será recomendado tratamento medicamentoso.

Segundo Kannel [102], a indivíduos com 240 mg/dl de CT é recomendado dieta rigorosa e com concentrações de CT igual ou superior a 260 mg/dl é recomendado tratamento medicamentoso. Recomenda-se a duração de 6 meses para o tratamento medicamentoso; se não resultar, pode substituir-se o medicamento por outros ou usar combinação de drogas.

No entanto, existem opiniões contraditórias: Olson [32] é de opinião que não existe risco para concentração de CT entre 180 e 210 mg/dl, se não existirem outros factores de risco, não devendo exagerar-se os benefícios que resultam da redução de concentração de CT para estes indivíduos; assim como acredita que para indivíduos com concentrações de CT entre 200-239 mg/dl, será mais benéfico a redução de outros factores de risco, como hipertensão e tabagismo, do que as reduções de concentrações de CT. No entanto, cada indivíduo deverá ser considerado como um caso único, e tratado como tal e nunca inserido num conjunto.

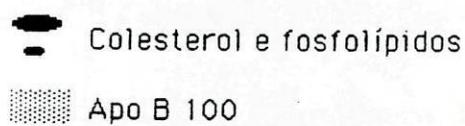
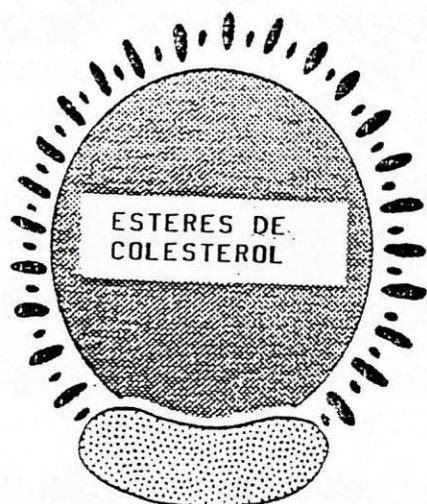
Smith e col [117] consideram que o colesterol sanguíneo elevado é apenas um dos factores de risco, sendo necessário que para se administrar medicamentos o risco seja real, que existam facilidades e controlo de tratamento, que o tratamento seja eficaz e que os efeitos positivos sejam superiores aos negativos. É necessário incrementar métodos cada vez mais rigorosos para identificar as pessoas que possam desenvolver DCV e descobrir quais os limites exactos de risco [120].

## 5 - LDL

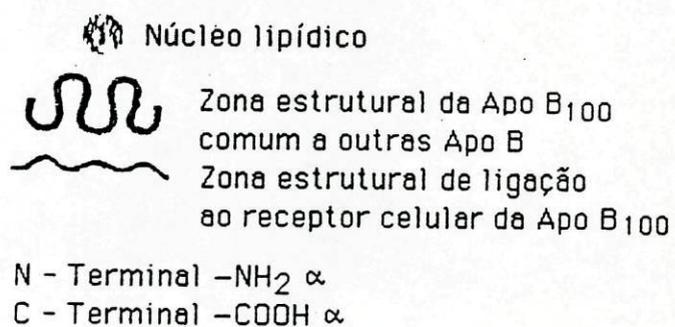
**Estrutura das LDL.** Como já foi referido, o colesterol é transportado no sangue sob a forma de Lps. Porém, os ésteres de colesterol são demasiado hidrófobos, necessitando de receptores específicos para poder passar através da membrana celular e ser libertado na célula. Relembramos que a estrutura das LDL tem um núcleo de ésteres de colesterol rodeado por uma coroa periférica constituída por colesterol, fosfolípidos e apoLp B (Fig.28a). É através do carboxilo terminal da apoLp B que as LDL se ligam aos respectivos receptores, e essa ligação é facilitada pela disposição deste mesmo grupo na molécula de LDL (Fig.28b) [123].

**Receptores de LDL.** São responsáveis por uma das vias de catabolismo das mesmas [121,131] e têm uma localização estratégica na superfície celular, ligando e transportando as LDL para o interior da célula por um processo designado por endocitose mediada por receptor (receptor-mediated endocytosis). As LDL captadas são libertadas nos lisossomas onde os ésteres de colesterol são hidrolisados; o colesterol resultante é usado pela célula na síntese de membranas, ácidos biliares, hormonas esteróides, ou armazenado na forma de gotas de éster de colesterol citoplasmático.

A elevada afinidade dos receptores das LDL para essas partículas, juntamente com a capacidade que os mesmos têm para a múltipla mobilização do colesterol (para fora e dentro das células) permite que grandes quantidades de deste esteróide sejam libertadas nos tecidos do corpo e mantenham ao mesmo tempo as concentrações de LDL no sangue suficientemente baixas, de forma a evitar a



**Figura 28a.** Esquema estrutural da LDL em que se representam os constituintes anfipáticos no exterior, os ésteres apolares de colesterol no interior e a apoproteína B 100 que se liga especificamente ao respectivo receptor celular.



**Figura 28b.** Representação da Apo B<sub>100</sub> mostrando a localização dos seus dois locais estruturais.

formação de placas ateroscleróticas.

Na presença de defeitos genéticos ou alterações na resposta aos sinais reguladores, a capacidade dos receptores LDL fica muito diminuída, conduzindo à perda do mecanismo protector, ao aumento da concentração do colesterol plasmático e ao aparecimento de aterosclerose. Müller, em 1938, demonstrou que a HF era devida a uma alteração hereditária no metabolismo dos lípidos, transmitida por um gene autossómico dominante. Khachadurian, em 1960, e Fredrickson e Levy, em 1970, demonstraram que as HF apareciam sob a forma heterozigótica e homozigótica, sendo esta última muito mais severa [122].

Nos diferentes grupos étnicos, uma em cada 500 pessoas possui uma HF heterozigótica. Desde o nascimento destes indivíduos que a ligação das partículas LDL aos receptores é deficiente, pois possuem apenas uma cópia do gene mutante receptor do LDL, o que origina o dobro das partículas de LDL no plasma, comparativamente ao número normal de partículas de LDL num indivíduo saudável.

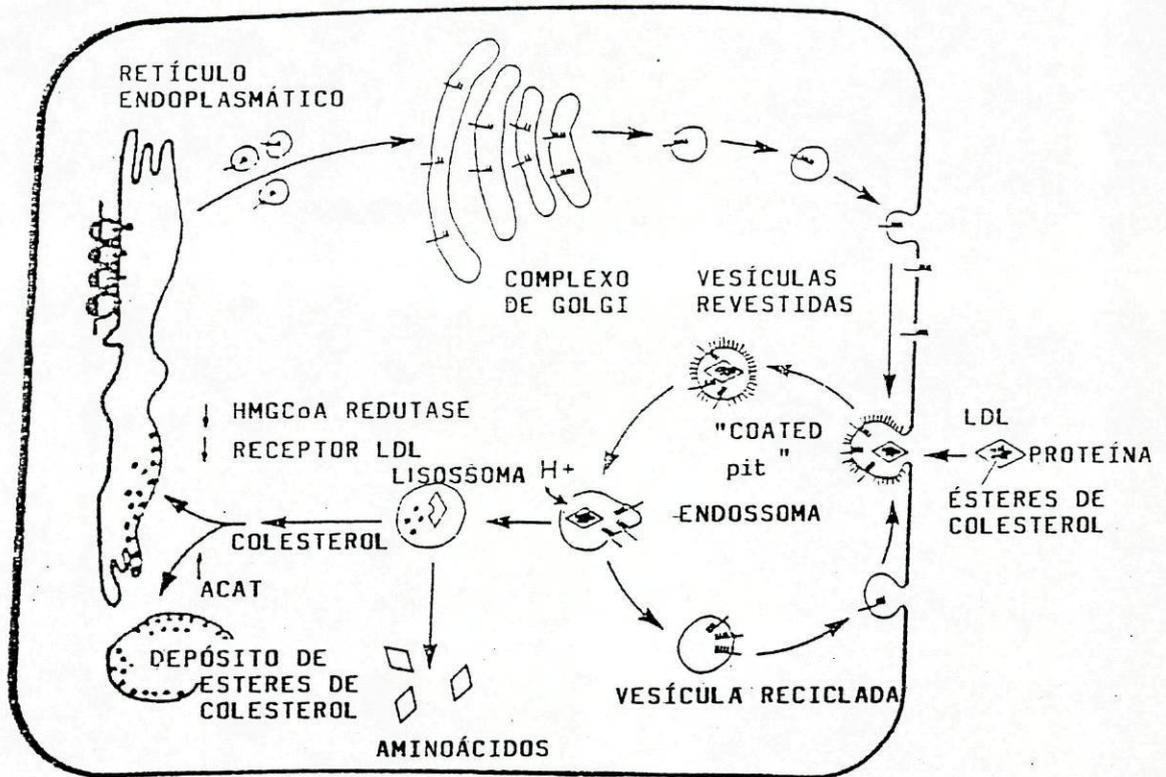
Um indivíduo, em um milhão de pessoas, sofre de HF homozigótica. Nestes indivíduos não se verifica a ligação das partículas de LDL, nem a penetração das mesmas na célula, uma vez que eles são portadores de dois genes mutantes no local do receptor LDL, um de origem paterna e outro de origem materna. Estes indivíduos apresentam uma concentração 6 a 10 vezes superior à concentração normal de LDL no plasma, e sofrem muitas vezes EM na juventude. Assim, existe uma aterosclerose severa, mesmo na ausência de outros factores de risco.

No mecanismo de ligação, penetração e degradação das partículas de LDL verifica-se que cerca de 45 minutos após a síntese dos receptores de LDL, as partículas de LDL aparecem na superfície celular, nas cavidades recobertas ("coated pits"), que as retêm constituindo vesículas endocíticas. Muitas destas vesículas endocíticas fundem-se e constituem os chamados endossomas ou receptossomas. Ao mesmo tempo verifica-se uma baixa do pH, devido a um protão do ATP que é bombeado na membrana.

Quando a membrana do endossoma se funde com o lisossoma devido ao pH ácido, as partículas de LDL dissociam-se do receptor e são libertadas no lisossoma. Os componentes proteicos da LDL são hidrolisados a aminoácidos e os ésteres de colesterol por acção duma lipase ácida libertam colesterol. Este processo induz uma redução da actividade dos receptores de LDL e da actividade da 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA-redutase (HMG CoA) que controla a taxa de síntese de colesterol, e a um aumento da actividade da colesterol-acil-transferase (ACAT), enzima que esterifica o colesterol, e permite o seu armazenamento.

Após a dissociação das LDL, as partículas do receptor regressam novamente à superfície celular, onde se voltam a ligar a novas partículas de LDL, iniciando um novo ciclo da endocitose. Cada receptor LDL realiza um ciclo de 10 em 10 minutos, quer esteja ou não ligado a partículas de LDL (Fig. 29). Os receptores LDL têm capacidade de se ligarem a duas proteínas: a apo B100, que entra na constituição das LDL, e a apo E, que entra na constituição das IDL e HDL.

Innerarity e Mahley [122] demonstraram que as Lps que contêm no seu gene cópias múltiplas de apo E se ligam aos receptores LDL com uma afinidade 20 vezes superior do que aquelas que só contêm cópias de apo B. Aproximadamente 2/3 da concentração de LDL é depurada da circulação através do fígado, das quais 80 a 90% pelos receptores LDL [124].



**Figura 29.** Percurso dos receptores de LDL, penetração e degradação das partículas de LDL nas células mamárias. O receptor depois de formado no retículo endoplasmático, atravessa o complexo de Golgi e vai para a superfície celular. Nos "coated pits" invagina-se formando vesículas que vão constituir o endossoma, depois de haver a libertação da partículas residuais, que se dirigem para a superfície celular originando novos "coated pits". O conteúdo do endossoma é libertado no lisossoma, onde se dá a esterificação do colesterol bem como a libertação e deposição dos ésteres de colesterol. Os componentes proteicos das LDL são hidrolisados a aminoácidos. Verifica-se simultaneamente uma redução da actividade dos receptores de LDL e da HMGCoA-reductase, e ainda um aumento da actividade da ACAT [122].

Os receptores de LDL (Fig.31) são constituídos por 5 domínios ("domains") [122]: o primeiro por 292 aminoácidos com o NH<sub>2</sub> terminal; o segundo por 400 aminoácidos; o terceiro 58; o quarto por 22; o quinto tem 50 aminoácidos, incluído o carboxilo terminal.

**Defeitos genéticos nos receptores de LDL.** Existem quatro tipos de defeitos genéticos nos receptores de LDL [122]:

1) O receptor não é sintetizado - o gene dos indivíduos portadores desta alteração não produz ou produz apenas vestígios da proteína receptora de LDL.

2) Mutação do gene - o receptor é sintetizado mas o transporte do retículo endoplasmático para o aparelho de Golgi é lento.

3) Mutação do gene - os receptores são sintetizados e posicionam-se na superfície celular, contudo não têm capacidade de reter as LDL.

4) Mutação do gene - os receptores posicionam-se na superfície celular e retêm as LDL, mas não permitem a interiorização das partículas de LDL.

Quando os receptores de LDL se saturam, a taxa de remoção de LDL é proporcional ao número de receptores; e quando o número de receptores está reduzido, as concentrações de LDL plasmáticas aumentam.

Verificou-se em animais de laboratório que a ingestão de dietas ricas em gorduras diminuem o número de receptores do fígado. Pensa-se que isto é devido a um mecanismo de inibição "feedback", ou seja, quando ocorre uma acumulação excessiva de colesterol no fígado, este responde diminuindo a produção de receptores de LDL.

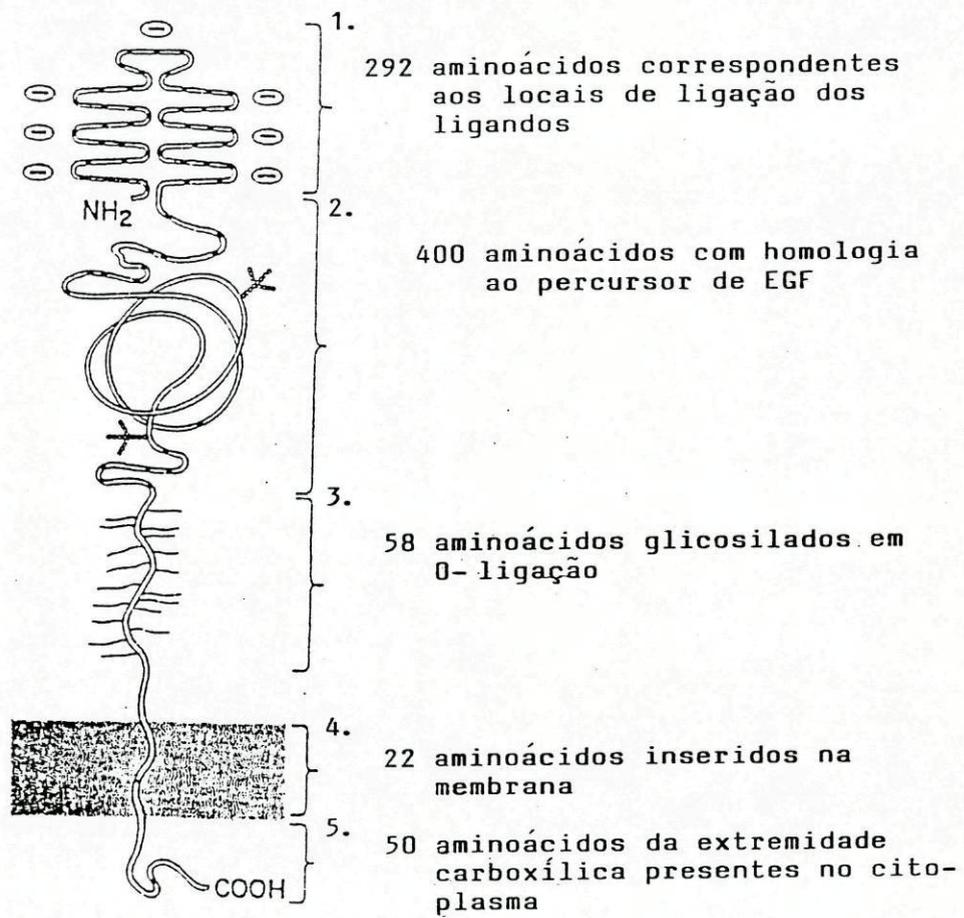
No fígado, o colesterol proveniente da dieta é regulado pelos receptores das quilomicras "remnants", cuja actividade é diferente da dos receptores de LDL. A produção das quilomicras "remnants" não é afectada pela acumulação de colesterol, o que permite que grandes quantidades de colesterol se acumulem no fígado, quando a dieta é rica em gorduras.

A saturação hepática e a supressão da produção de receptores hepáticos é a principal responsável pelo aumento de concentração de LDL quando se ingerem dietas ricas de ácidos gordos saturados e colesterol. Se a estes factores se adicionar uma capacidade fixa ou diminuída da remoção do LDL, as concentrações de LDL plasmáticas aumentam ainda mais.

A quantidade de colesterol suficiente para alimentar células é de 25 mg/dl, o que corresponde a uma concentração de CT de 110-150 mg/dl de sangue. Quando os níveis plasmáticos de LDL aumentam, os receptores de LDL ficam saturados. Este estado de saturação impede que as LDL sejam removidas eficientemente do plasma.

Cada receptor movimenta apenas uma partícula de LDL de cada vez; e quando os receptores estão saturados, a taxa de remoção do LDL só pode ser acelerada por um processo independente do receptor, que envolva um aumento da depuração.

**Heterogeneidade das partículas de LDL.** Muitos estudos experimentais, clínicos e epidemiológicos, demonstraram que concentrações elevadas de LDL estão



**Figura 30.** Esquema da constituição do receptor celular para as LDL.

associadas ao desenvolvimento de aterogénese acelerada [126, 127]. As LDL plasmáticas são partículas extremamente heterogéneas, variando de indivíduo para indivíduo, e no próprio indivíduo apresentam distintas características físicas e químicas, podendo umas ser mais aterogénicas do que outras:

- estudos realizados, por ultracentrifugação analítica permitiram verificar que o plasma de indivíduos com DCC, assim como o plasma de coelhos alimentados com dietas ricas em colesterol, possuíam partículas mais densas de LDL;

- estudos realizados, em electroforese de gel de poliacrilamida sugerem que as subfracções de LDL, mais pequenas e mais densas, estariam presentes em maior número em sobreviventes de DCC;

- observou-se também que nas LDL de indivíduos com DCC, se verificava uma elevação nos valores de razão da concentração de apo B/CT;

- verificou-se que as LDL de alguns doentes com HF eram maiores e continham maior percentagem de ésteres de colesterol e menor percentagem de TG do que as LDL de indivíduos normais;

- outros investigadores concluíram que indivíduos com HF e deficiência de receptores LDL, possuíam partículas maiores e enriquecidas com ésteres de colesterol;

- observou-se também que nas LDL de indivíduos com DCC, se verificava uma elevação nos valores da razão da concentração de apo B/CT;

- em indivíduos com hipertrigliceridemia, verificou-se a presença de partículas de LDL mais pequenas e mais densas;

- sugeriu-se que as LDL pequenas e pobres de ésteres de colesterol, apareceriam por um mecanismo em que a proteína mediadora do transporte de lípidos transferiria os ésteres de colesterol das LDL para as VLDL. Da lipólise subsequente das moléculas de LDL mais ricas em TG resultariam partículas LDL mais pequenas e com menor quantidade de ésteres de colesterol. Este mecanismo pode ser extremamente importante nos casos de hiperlipidemia combinada, em que se observam concentrações elevadas de VLDL e um aumento do tempo em que as LDL permanecem na circulação sanguínea; o mesmo se verifica também nos doentes hipertrigliceridémicos que apresentam uma correlação negativa entre o tamanho das LDL e a concentração de TG no plasma [124].

Packard e col [128] demonstraram que existe uma heterogeneidade metabólica das VLDL, e verificaram que a produção de LDL, a partir das VLDL grandes e mais ricas em TG, era de cerca de 10% do total, enquanto mais de 40% das VLDL pequenas eram transformadas em LDL. As VLDL grandes aceitam mais ésteres de colesterol que as pequenas, e pensa-se que estas VLDL não são transformadas em LDL.

As LDL são formadas no interior dos vasos sanguíneos, por um processo dinâmico, que envolve a remoção de alguns lípidos e das VLDL. No entanto, nem todas as VLDL se concentram em LDL, variando a proporção de conversão de indivíduo para indivíduo e de patologia para patologia. Estudos do metabolismo das LDL apontam para uma secreção directa das LDL na circulação. A relação entre LDL segregadas e as que resultam das VLDL varia de indivíduo para indivíduo [124]. O fígado é o órgão em que se verifica maior actividade dos receptores das LDL.

As técnicas que permitem determinar a actividade dos receptores "in vivo" evidenciaram diferenças importantes na actividade dos receptores das LDL, que são responsáveis pelas variações dos níveis séricos de LDL nos diferentes indivíduos.

**Subfracções das LDL.** Recentemente foi desenvolvido o estudo das subfracções das LDL e HDL e a possível relação das variações das concentrações dessas subfracções com a aterosclerose. Os trabalhos de McNamara e col [130], realizados com electroforese em gel de gradientes de concentração, concluíram que as determinações das subfracções das LDL forneciam resultados reprodutíveis. Observaram, também, que era indiferente para estas determinações o uso do soro obtido em jejum, soro pós-prandial, fresco ou congelado. Verificaram que existia uma diferença significativa entre os valores das subfracções das LDL obtidas para o sexo masculino e feminino, o que talvez possa explicar a diferença de risco para DCV que existe entre os dois sexos.

Por ultracentrifugação, com diferentes gradientes de densidade e por electroforese em gel de gradientes crescentes obtêm-se 4 subfracções das LDL designadas por LDL-I, LDL-II, LDL III e LDL-IV, que têm diferentes densidades e diâmetros de partículas. A Fig. 31 representa a separação electroforética das LDL e o Quadro 11 as densidades e diâmetros das subfracções das LDL.

A electroforese das LDL, em gel com gradientes de diferentes concentrações, permitiu classificar os indivíduos em 2 grupos segundo as subclasses das LDL [129]:

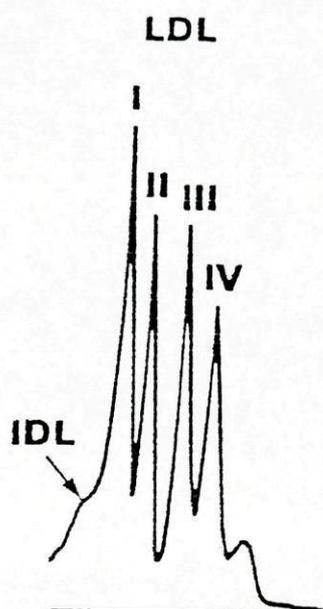
**Grupo A** - é definido como uma subclasse das LDL, com duas curvas simétricas, em que aparece um pico maior, para partículas com diâmetro maior ou igual a 25,5 nm e um pico menor, de partículas de LDL mais pequenas.

**Grupo B** - que apresenta uma curva simétrica, com um pico maior, para partículas com diâmetro inferior a 25,5 nm, e uma curva, mais pequena e assimétrica, para partículas de diâmetro menor. Este grupo é caracterizado pela preponderância de partículas pequenas e densas de LDL e está associado a um aumento de três vezes de risco de DCV, a aumentos das concentrações de TG, VLDL, IDL, LDL, apolipoproteína B e à diminuição das concentrações de HDL, não podendo, por isso, ser considerado um factor de risco independente.

Dos estudos feitos em famílias saudáveis concluiu-se que os grupos das subfracções das LDL eram controlados geneticamente [129]. Krauss e col [11] verificaram que nos indivíduos normais a LDL-II é a subfracção mais abundante, sendo a concentração de LDL-I maior nas mulheres e a de LDL-III mais elevada nos homens. Esta heterogeneidade das LDL era devida, em parte, ao facto de terem origem em diferentes IDL.

Estudos em doentes com hiperlipidemia familiar combinada e em sobreviventes de EM [11], sugerem que as partículas de LDL-III são aterogénicas. Por outro lado, os aumentos da concentração de IDL e LDL estão correlacionadas com as diminuições das concentrações de HDL2, podendo-se admitir que as variações das concentrações de todas estas subfracções estejam relacionados com as DCV. No entanto, são necessários estudos posteriores para o esclarecimento desta matéria.

O metabolismo das LDL está intimamente relacionado com o metabolismo das apoLp B, que estão estudadas no capítulo 9.



**Figura 31.** Subfracções da LDL: representação da leitura, por densitometria, da electroforese obtida em gel, com gradiente de concentrações de poli-acrilamida, de 2 a 16%, em condições não desnaturantes e coloração com azul de coomassie [11].

Subclasses	Densidade	Diâmetro (nm)
LDL-I	1.025-1.035	26.0-27.5
LDL-II	1.032-1.038	25.5-27.0
LDL-III A	1.038-1.050	24.7-25.2
LDL-III B		24.2-24.6
LDL-IV A	1.048-1.065	23.3-24.2
LDL-IV B		21.8-23.2

**Quadro 11:** Densidade e diâmetro das partículas das subclasses das LDL [11].

## 7- HDL

**Relação entre as concentrações de HDL e o aparecimento de aterosclerose.**  
À medida que se foi conhecendo o metabolismo lipídico verificou-se que a diminuição nas concentrações de HDL estava associada ao aparecimento de DCV [184, 132, 133, 149], concentrações elevadas de HDL apontavam para um risco negativo de DCV [3] [134] [135], embora Simons e col. [148] afirmem que a previsão de risco negativo só é válida para indivíduos com história familiar positiva de DCV.

Segundo Miller [136], as partículas de HDL desempenham um papel antiaterogénico. Estudos epidemiológicos confirmaram que se verificavam taxas baixas de mortalidade por DIC em indivíduos com concentrações elevadas de HDL [137]. Mahley e col. [138] verificaram que concentrações elevadas de colesterol exógeno, proveniente da dieta, provocavam alterações nas concentrações de HDL. As concentrações de HDL são influenciadas pela actividade física, principalmente pela capacidade aeróbia [139, 145].

Está hoje confirmado que alterações nas concentrações de HDL podem ser tão importantes na aterogénese como a hipercolesterolemia. Os estudos de "Tromso" e "Framingham heart study" concluíram que alterações nas concentrações de HDL constituíam o maior factor de risco.

Existem hoje dados que permitem comprovar que indivíduos com concentrações baixas de HDLc são indivíduos em risco, mesmo que os valores de LDLc estejam dentro dos limites normais.

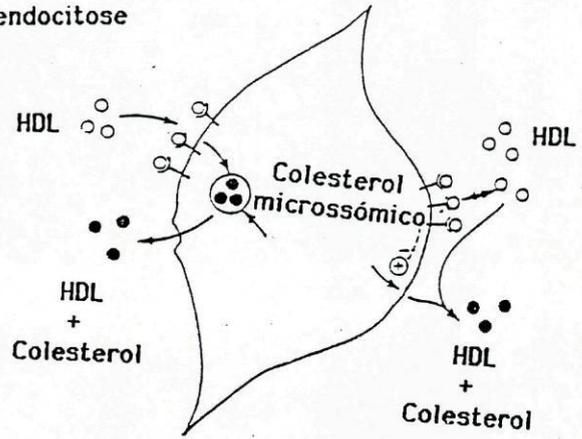
O programa "National Cholesterol Education" dos E.U.A. [140] recomenda que a determinação do HDLc para todos os indivíduos cujo CT seja superior a 200 mg/dl e considera níveis baixos de HDLc concentrações inferiores a 35 mg/dl para os homens e 45 mg/dl para as mulheres.

**Transporte inverso do colesterol.** O efeito protector da HDL contra a aterosclerose pode ser devido à sua função no "transporte inverso do colesterol", no qual o colesterol é transportado das células periféricas para o fígado. Este processo pode ser regulado pela ligação selectiva das HDL à superfície celular dos receptores. Células de cultura mostram possuir locais específicos em que se verifica uma elevada afinidade para se ligarem às partículas de HDL.

Oram e col. [141] identificaram uma glicoproteína associada à membrana, e após os seus trabalhos, sugeriram a existência de um mecanismo para o transporte do colesterol intracelular para o exterior, em que os receptores que prendem as HDL, seguiriam um esquema de retroendocitose: as partículas de HDL complexadas com o receptor seriam dirigidas para os "pools" intracelulares de colesterol, donde regressariam à superfície celular e daí ao fluido extracelular como partículas de HDL enriquecidas com colesterol (Fig.32).

Vários estudos demonstraram que a um aumento de 1 mg/dl de HDLc, assim como a uma diminuição de 2 a 4 mg/dl de LDLc corresponde uma diminuição de 2 a 4% no risco de sofrer DCV [142]. No estudo realizado por Assman e col. [143] na República Federal da Alemanha, que analisou 19.698 amostras de homens e mulheres, com idades entre 16 e 65 anos, não se encontrou correlação entre os valores de HDLc séricos e a idade para indivíduos do sexo masculino. No sexo feminino observou-se um leve aumento nas concentrações de HDLc. Com o avançar da idade, os valores de apo A-I aumentam nos homens até aos 45 anos, ficando a

Retro-endocitose



**Figura 32.** Mecanismo possível da mediação no transporte de colesterol intracelular pelo complexo HDL-receptor. As partículas de HDL ligadas aos receptores dirigem-se para os "pools" de colesterol microssomal, fixam colesterol que transportam para o fluido extracelular como partículas enriquecidas com colesterol [141].

partir dessa idade constantes. Nas mulheres, as concentrações de apo A-I aumentam com a idade.

Nessa população os valores de LDLc mostraram ser os principais vaticinadores de risco em indivíduos jovens do sexo masculino. A importância dos valores de LDLc decresce com a idade, contrariamente às indicações fornecidas pelas concentrações séricas de HDLc, cujo valor indicativo de risco aumenta com a idade.

**Subfracções das HDL.** As HDL podem subfraccionar-se por ultracentrifugação analítica [11], ultracentrifugação zonal [144] e electroforese com gradientes de gel [11]. Por ultracentrifugação analítica obtêm-se três subfracções, conforme a sua taxa de flutuação: - HDL1 - (é o componente menor com uma densidade que se sobrepõe à densidade das LDL), HDL2 e HDL3. Na Fig. 33 podemos ver a distribuição das partículas de HDL quando separadas por ultracentrifugação analítica (A), por ultracentrifugação zonal (B) e por electroforese em gradientes de gel de poliácridamida de 4 a 30% (C).

Verificou-se que a concentração do colesterol da HDL2 apresentava uma correlação positiva com a concentração da LPL do tecido adiposo e uma correlação negativa com a concentração dos TG das VLDL. Os indivíduos com hipertrigliceridemia apresentavam uma diminuição na concentração de HDL2.

Uma alimentação rica em gorduras polinsaturadas perturba o metabolismo das HDL, talvez indirectamente pela sua influência na génese das quilomicras da mucosa intestinal. Verifica-se uma redução na concentração das apo A-I, da concentração das HDL (em cerca de 21%); as partículas de HDL tornam-se mais densas, mais fluídas e diminui relativamente a concentração de HDL2.

**Metabolismo das HDL.** Evidentemente que o metabolismo das HDL está relacionado com o metabolismo das VLDL e das LDL (Fig. 34). Já foi referido que a partir das gorduras da dieta o intestino sintetiza quilomicras que por acção da LPL do endotélio capilar podem:

- ser hidrolisadas a AGL que fornecem energia ao tecido muscular e ao miocárdio, ou podem constituir reservas lipídicas no tecido adiposo, ou serem ainda transportadas até ao fígado;

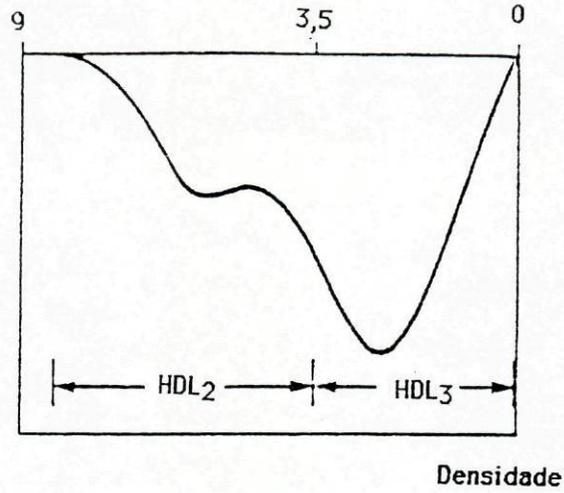
- ser convertidas a quilomicras "remnants" (VLDL e IDL) que são captadas pelo fígado nos receptores "remnants". O fígado, por sua vez, sintetiza VLDL (a partir do colesterol e TG), que podem ir para o tecido adiposo, onde são novamente hidrolisadas a AGL que regressam ao fígado.

- por acção da LPL, serem convertidas a IDL e estas por acção da LH serem transformadas em LDL.

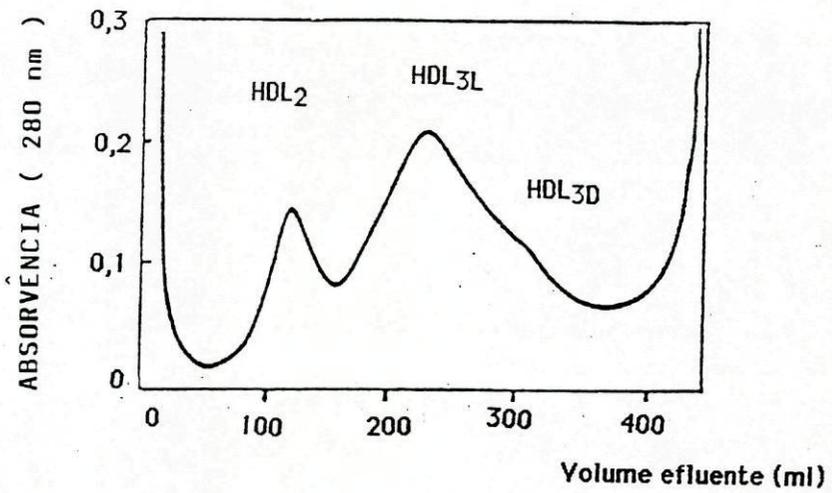
As LDL podem ser tomadas da circulação pelos receptores "scavenger" dos macrófagos, pelos receptores LDL hepáticos do fígado, ou pelos receptores das células periféricas.

Por outro lado o intestino e o fígado sintetizam HDL nascente, discoidal, constituída por colesterol livre, fosfolípidos e apolipoproteínas A-I e E. As HDL nascentes aceitam colesterol das células periféricas (sob a acção da LCAT) dos macrófagos, do endotélio capilar, das quilomicras e das VLDL, convertendo-se em HDL maduras, de forma esférica, as quais cedem por sua vez= apo E e apo C-II às VLDL.

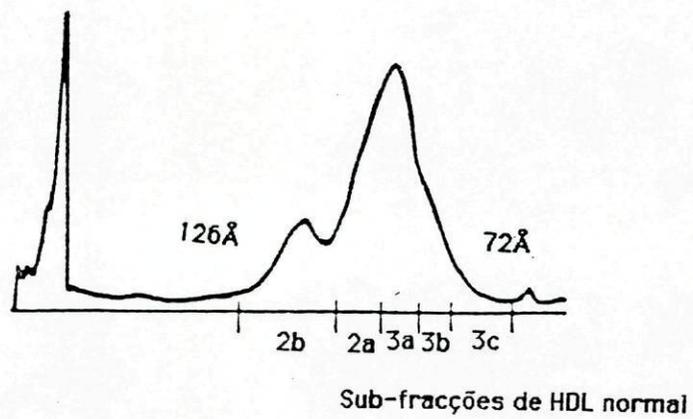
A.



B.



C.



**Figura 33.** Distribuição das partículas de HDL quando separadas por ultracentrifugação analítica (A), ultracentrifugação zonal (B) e por electroforese em gradientes de gel de poliacrilamida de 4 a 30% (C).

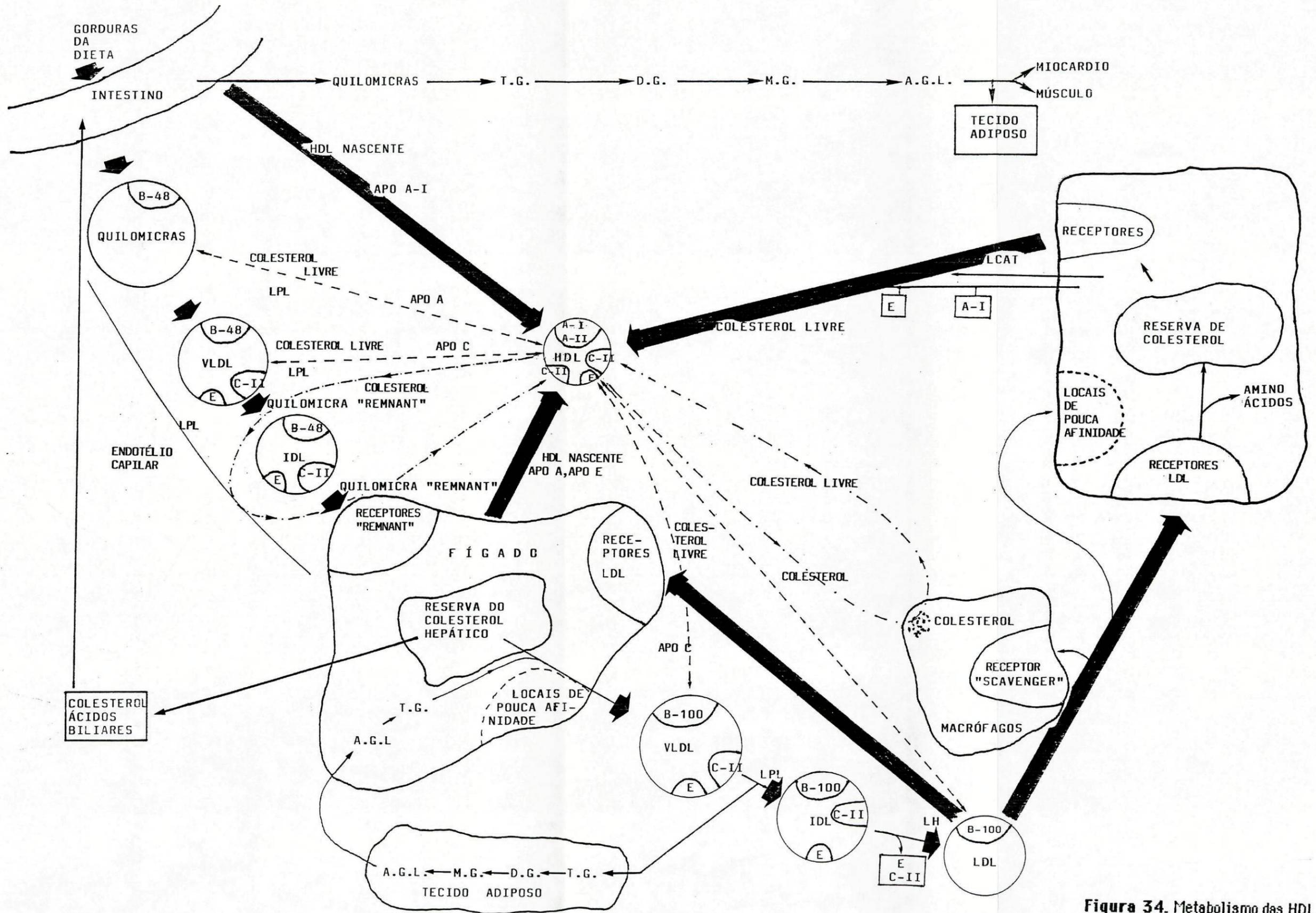


Figura 34. Metabolismo das HDL.

As HDL também intervêm no designado "transporte inverso do colesterol", que consiste na transferência do colesterol em excesso das células periféricas para o fígado pelas HDL que podem ser tomadas pelos receptores hepáticos das HDL; ou o colesterol pode ser transferido para as VLDL e LDL (por acção da "proteína transferidora de lípidos") e transportada para o fígado onde é tomado pelos receptores LDL, para ser reutilizado ou para ser excretado sob a forma de sais biliares [146, 147].

Torna-se, pois, evidente que concentrações baixas de HDL plasmáticas são tão aterogénicas como as concentrações elevadas de LDL. Nas hiperlipoproteinemias tipo IV e II-B verifica-se uma diminuição muito acentuada nas concentrações de HDLc. A razão LDLc/HDLc aparece aumentada nas hiperlipoproteinemias de tipo II-A e tipo IV da classificação de Frederickson.

## 8 - Apolipoproteína A-I

**Apolipoproteínas como marcadoras de partículas lipoproteicas.** Devido às suas propriedades químicas e imunológicas, as apoLps podem representar os marcadores mais convenientes para identificar e classificar o sistema altamente heterogéneo das partículas lipoproteicas. Partículas primárias de Lps (ou famílias de Lps ou simplesmente Lps) são Lps que só contêm uma apolipoproteína (apoLp). Partículas secundárias de Lps (ou famílias de Lps ou complexos de Lps), resultam da interacção entre as partículas primárias de Lps e as outras apoLps. O reconhecimento de cada uma delas antigenicamente define-as como famílias de Lps primárias ou secundárias, representando um sistema polidisperso de partículas que elimina a necessidade de ver as Lps como um sistema de classes descontínuas de densidades ou de bandas electroforéticas. Em lugar disso, as Lps podem ser consideradas química e metabolicamente como um conjunto de famílias de Lps primárias e secundárias ou Lps simples e complexas [89, 150].

**Relação entre as variações na concentração de apo A-I e DCV.** A função das apoLps não está limitada a manter a estabilidade e a integridade das partículas Lps. Já foi demonstrado que algumas apoLps desempenham funções específicas na conversão metabólica das partículas lipoproteicas, incluindo a activação e a inibição de enzimas lipolíticas e de LCAT e o reconhecimento de receptores celulares [151]. Daqui resultou o aparecimento de várias técnicas para a quantificação das apoLps e a caracterização das alterações do transporte lipídico em função das concentrações das apoLps. Uma vez que o bom funcionamento do transporte lipídico depende de certos limites característicos de concentrações de Lps simples ou complexas, um desarranjo estrutural ou funcional desse sistema pode reflectir-se na alteração da concentração dessas partículas lipoproteicas ou dos seus constituintes apoproteicos. A extensão dessa alteração estará relacionada com o grau e tipo de defeito metabólico ou influência exterior. Ainda não podemos responder à questão posta por Malmendier [152]: "Iráo as apoLps destronar os lípidos na investigação da etiologia da aterosclerose e de outras patologias?". Mas podemos afirmar que o estudo das diferentes apoLps e o seu interesse no diagnóstico clínico são, hoje, já incontestáveis.

Avogaro e col. [153], em função dos resultados dos seus estudos, concluíram que as apoLps eram tão boas como os lípidos como discriminatórios de DCV para indivíduos com idades inferiores a 50 anos e forneciam melhores índices discriminatórios para indivíduos com idades entre 60 e 80 anos, afirmando mesmo Avogaro e Riesen [154] que a parte proteica das Lps é mais discriminatória entre

indivíduos com aterosclerose e indivíduos saudáveis do que as simples determinações lipídicas. O doseamento das apoLps sobre o doseamento lipídico tem a vantagem de precisar de quantidades mínimas de amostra, geralmente independente de factores contaminantes como bilirrubina e opacidade leitosa e fornecem uma boa precisão e reprodutibilidade [152], não sofrendo variações pós-prandiais significativas [155].

**Estrutura química e funções da apolipoproteína A.** As HDL contêm 2 tipos de apo A-I, constituindo 60-70% do total das HDL, originando partículas lipoproteicas que podem ter diferentes funções metabólicas e diferente significado clínico: umas contendo apo A-I e apo A-II e outras contendo só apo A-I [156]. Uma sequência de aminoácidos com massa molecular de 2831 foi referida por Baker e col. que identificaram 245 resíduos. Um estudo posterior de Brewer e col. refere 243 resíduos de aminoácidos, sendo pelo menos 23 diferentes dos referidos por Baker [157]. A apo A-I contém aproximadamente 55% da sua estrutura em hélice alfa, 8% linear e 37% em enrolamento aleatório. A apo A-I foi separada em seis formas polimórfas por electroforese bidimensional e em quatro formas polimórfas por focagem isoelectrica.

Parece que as apoLps A-I, A-II e A-III activam a LCAT e que a apoLp A-IV inibe a LCAT [157]. As apoLps A-I e A-II cooperam na manutenção da integridade estrutural das HDL, regulando também o conteúdo lipídico das membranas e a sua fluidez [158]. A apoLp A-I é importante para a esterificação do colesterol devido à sua capacidade para activar a LCAT (E.C.2.3.1.43) que cataboliza a transferência de ácidos gordos em C-2 da fosfatidilcolina para o colesterol [157]. Outros autores consideram que as determinações de apoLp A-I são melhores preditoras de DCV que as concentrações de HDLc, verificando que se observava uma descida dos valores das concentrações de apoLp A-I nos sobreviventes de EM e de DCV [159].

**Factores que influenciam a concentração de apolp A-I.** A concentração das apoLps é influenciada por factores ambientais [160] tais como:

- Urbanização: os indivíduos do campo têm menor concentração de apoLp A-I do que os habitantes da cidade, verificando-se estas diferenças até aos 45 anos, quer para o sexo masculino, quer para o sexo feminino.

- Consumo de álcool: aumenta a concentração de apolp A-I, podendo influenciar o aumento verificado nas populações das cidades, uma vez que, nas mesmas, o consumo de álcool é maior.

- Exercício físico: nos indivíduos com ausência de exercício físico verificou-se menor concentração de apoLp A-I. Não se verificaram influência nas concentrações de apoLp A-I com a idade ou com o uso do tabaco. Verificam-se valores mais baixos para maior peso corporal. Os valores das concentrações de apoLp A-I é influenciada por valores genéticos [160].

## 9- Apolipoproteínas B

As Lps do plasma são estruturas complexas. Cada classe de Lps contém várias espécies de lípidos e um ou mais polipeptídeos designadas por apolipoproteínas. Os vários componentes das Lps têm diversos destinos metabólicos e diferentes tempos de semi-vida [161].

A apolipoproteína B é a principal proteína constituinte das LDL, VLDL e quilomicras, e desempenha um papel importante no transporte do colesterol e triglicéridos do plasma. A apoLp B é capaz de se ligar aos receptores dos tecidos periféricos e hepáticos e contribuir para a penetração e degradação das LDL, daí a importância da sua quantificação para ajudar a previsão de risco de DCV [162].

**Apolipoproteínas B100 e B48.** Nas Lps plasmáticas existem 2 apoLps B designadas por apo B100 e apo B48. A apoLp B100 é sintetizada principalmente no fígado e encontra-se nas LDL e VLDL. A apoLp B48 é sintetizada exclusivamente no intestino e encontra-se nas quilomicras e nas quilomicras "remnants". A apoLp B100 é uma glicoproteína de elevada massa molecular, constituída por 4536 aminoácidos; parece que a apo B48 tem metade do tamanho da apo B100. Estudos genéticos e bioquímicos indicam que as apoLp B100 e B48 são produzidas pelo mesmo gene.

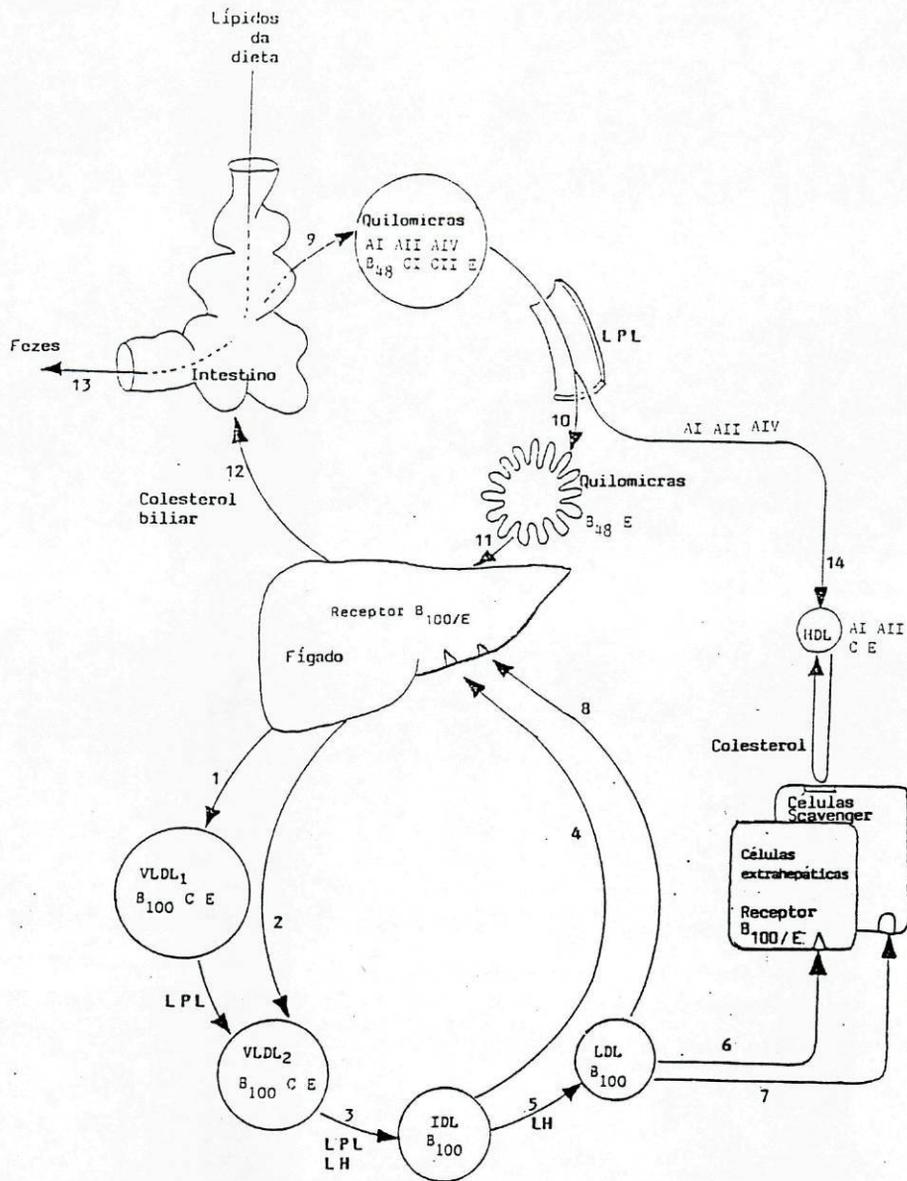
Dos trabalhos de Innerarity e col. [163], podemos concluir que a apoLp B48 está contida na sequência da apo B100 e que o fragmento apo B26, a fracção amino terminal de apo B100, está contida na sequência da apoLp B48, o que sugere que a apo B48 possa ser um fragmento da apo B100 com o grupo amina terminal.

A apoLp B não participa nas transferências entre as diferentes Lps, por isso usou-se e usa-se como uma sonda para investigar o metabolismo das Lps no homem. Os resultados de muitos trabalhos demonstram que em indivíduos normais, a apo B das VLDL é transmitida quantitativamente para as LDL, o que se verifica em mais de 90% das apo B.

A noção de que da síntese das apo B e dos TG das VLDL se gerariam partículas de tamanho uniforme precisou de ser revista; dos trabalhos de Shepherd e col. [164] podemos concluir que a maior parte das LDL não têm a sua origem nas "VLDL grandes", mas possivelmente resultam de partículas mais pequenas, "VLDL pequenas", sendo a maioria destas transformadas em LDL. Em indivíduos normais, uma grande quantidade de partículas ricas em TG é segregada para a circulação. As maiores destas VLDL grandes, são lipolisadas intravascularmente para gerar "remnants" que são depurados da circulação em grande número, segundo um processo que depende em grande parte dos resíduos de arginina da apoLp da Lp. As mais pequenas, VLDL pequenas, transformam-se em LDL.

**Metabolismo das apolipoproteínas B.** A Fig. 35 apresenta uma revisão do metabolismo das apoLps B em indivíduos saudáveis: o fígado sintetiza VLDL1 (VLDL grandes) com as apoLps B100, C e E, que se convertem em VLDL2 (VLDL pequenas) por acção da LPL, de cuja constituição fazem parte igualmente as apoLps B100, C e E [165].

As VLDL2 são hidrolizadas a IDL, por acção da LPL e da LH, só com apo B100, que pode ser tomada pelos receptores hepáticos B100/E, ou pode ser hidrolizada a LDL, por acção da LH, também só com apo B100 na sua constituição, que pode ser tomada pelos receptores B100/E das células extra-hepáticas ou pelas células "scavenger".



**Figura 35. Metabolismo da apolipoproteína B em indivíduos saudáveis [165,166]:**

- 1- Libertação de VLDL<sub>1</sub> (VLDL grandes).
- 2- Libertação de VLDL<sub>2</sub> (VLDL pequenas).
- 3- Hidrólise das VLDL<sub>2</sub> a IDL.
- 4- Depuração de IDL pelos receptores B<sub>100</sub>/E.
- 5- Hidrólise de IDL a LDL.
- 6- Depuração de LDL pelos receptores B<sub>100</sub>/E das células extra-hepáticas.
- 7- Depuração de LDL pelas células "scavenger".
- 8- Depuração de LDL pelos receptores B<sub>100</sub>/E das células hepáticas.
- 9- Libertação das quilomicras do intestino.
- 10- Formação de quilomicras- "remnants".
- 11- Entrada das quilomicras- "remnants" no fígado.
- 12- Libertação de ésteres de colesterol biliares.
- 13- Eliminação dos ésteres de colesterol pelas fezes.
- 14- Apo Lps que passam para a HDL.

Por outro lado, o intestino sintetiza quilomicras com as seguintes apoLps: A-I, A-II, IV, B48, C-I, C-II e E, que por acção da LPL, segregada pelas células do endotélio, podem converter-se em quilomicras "remnants", de cuja constituição fazem parte as apoLps B48 e E, que são tomadas pelo fígado, o qual sintetiza colesterol biliar que é eliminado pelo intestino nas fezes. Ou então cedem apoLps A-I, A-II e IV às HDL.

Podemos constatar que a LPL, situada no endotélio capilar, é responsável pela remoção das quilomicras e VLDL grandes, enquanto a LH exerce principalmente a sua acção sobre as IDL e VLDL pequenas, donde podemos pensar que as duas enzimas tenham efeito complementar.

Da deficiência em LPL resulta a acumulação de quilomicras e de VLDL. A actividade da LPL é regulada pela insulina e pode ser activada por drogas hiperlipidemicas. A apo C-II é um cofactor essencial para a acção da LPL e da sua ausência ou defeito resulta a acumulação de VLDL e de quilomicras.

Nos casos raros de indivíduos que têm ausência de apo C-III no plasma, encontram-se valores baixos de TG e o catabolismo das VLDL é acelerado para valores superiores aos normais.

Os indivíduos com hiperlipoproteinemias de tipo I transferem as apo B das VLDL para as IDL e destas para as LDL a uma taxa normal; a possível explicação para este facto é que as apo B estejam presentes em partículas pequenas de VLDL, não dependendo a sua transformação em IDL da acção da LPL, mas sim da acção da LH.

**Alterações no metabolismo das apoLps B e respectiva corresponsabilidade por alguns estados patológicos.** As apoLps B100 e B48 são necessárias como constituintes estruturais das partículas lipoproteicas para a secreção de Lps ricas em TG pelo intestino e pelo fígado. Dos defeitos na estrutura de apo B ou do conjunto das Lps que contêm apo B, resulta uma lacuna de Lps ricas em TG de origem hepática e intestinal. Doentes com este tipo de dislipoproteinemia sofrem de abetalipoproteinemia ou hipobetalipoproteinemia homocigótica.

Nas hipertrigliceridemias de tipo IV, encontrou-se um valor 5 vezes superior para as apoLps B das VLDL relativamente ao encontrado em indivíduos normais, o que resulta duma síntese duplicada de apo B, associada a um catabolismo defeituoso ou saturado das apo B. Aparece apenas cerca de 60% das apo B das VLDL nas LDL, sendo o restante catabolizado por uma via independente. O "turnover" das apo B das LDL nestes indivíduos é normal [167].

Os pacientes com hipertrigliceridemia de tipo V apenas apresentam um aumento acentuado na concentração de apo B, o que se deve a uma síntese aumentada de VLDL grandes, assim como a uma remoção defeituosa das apo B. A fracção catabolizada das apo B das VLDL é cerca de 14% da dos indivíduos normais; no entanto, mais de 85% das VLDL aparecem nas LDL cujo "turnover" aumenta devido a um aumento do seu catabolismo. O aumento catabólico das apo B das LDL, nestes indivíduos, é cerca de 4 vezes o normal [167].

Os indivíduos com hiperlipoproteinemias de tipo III (dislipoproteinemias), possuem uma rara alteração metabólica associada a um defeito na estrutura primária da apoLp E. Esta anomalia afecta o metabolismo das Lps que contêm apo B, provavelmente por interferência na ligação com os receptores da membrana celular.

A apoLp E existe em 3 isoformas mais frequentes, designadas por E2, E3 e E4. A apo E3 é comum nas populações, enquanto a apo E2 e apo E4, mais raras, parecem surgir por mutações nalguns pontos [170]. Sabemos hoje que os indivíduos homocigóticos para E4 possuem valores elevados de LDL, enquanto possuem este parâmetro reduzido os homocigóticos E2.

Os indivíduos com hiperlipoproteinemia de tipo III possuem uma constituição anormal de VLDL, com acumulação de IDL no plasma. A conversão de VLDL através de IDL a LDL é mais lenta nestes indivíduos [164].

A HF é uma alteração metabólica comum, devida a um defeito de expressão do gene que codifica os receptores LDL na membrana celular. Os indivíduos com esta alteração acumulam as Lps no seu plasma, o que os predispõe ao aparecimento de xantomas (doenças de esteróides) e doença vascular prematura. A HF pode aparecer sob as formas homo e heterocigótica, ambas possuindo um defeito na actividade dos receptores de LDL. A etiologia das hipercolesterolemias caracteriza-se, primeiramente, por um atraso na depuração das LDL na circulação [168]. Alguns doentes podem apresentar uma síntese aumentada da apo B, o que pode originar importantes alterações nos valores de LDL [169].

A composição e o metabolismo das "VLDL grandes", nos indivíduos com HF é normal; não sendo influenciados pelos defeitos nos receptores, a taxa de conversão das "VLDL grandes" a "VLDL pequenas" por acção de LPL.

As alterações nesta doença apenas se tornam evidentes nas "VLDL pequenas". Da maior proporção de apo B nesta fração resultam uma lenta metabolização em "remnants", o que presumivelmente contribui para a elevação da razão ésteres de colesterol/TG encontradas na HF. O mecanismo deste fenómeno não está claro; no entanto põe-se a hipótese de que a estadia prolongada das VLDL pequenas no plasma, com retardamento de todo o processo de deslipidação, pode originar um aumento da deposição de ésteres de colesterol, provenientes das HDL, nas partículas, o que pode dificultar posterior lipólise.

O catabolismo defeituoso dos "remnants" também tem influência nas HF, verificando-se um aumento de cerca de 10 vezes na concentração normal das VLDL "remnants" nestes doentes, do que resulta um aumento da síntese de "VLDL pequenas".

Na HF homocigótica verifica-se um aumento da produção de LDL, havendo uma síntese de apo B maior do que a encontrada nos indivíduos controlo; o catabolismo directo das partículas que contêm apo B está retardado. As LDL são removidas do plasma a uma velocidade igual a 1/3 da observada em indivíduos normais, possivelmente por um mecanismo independente dos receptores.

O catabolismo das IDL também está retardado, o que leva a crer que os receptores desempenham importante função neste processo. A deficiência de receptores afecta tanto as IDL como as LDL [168].

Nas HF heterocigóticas encontram-se apenas metade do número normal de receptores de LDL; a concentração plasmática de IDL está aumentada, verificando-se uma redução na taxa de conversão de IDL em LDL, estando também diminuído o catabolismo das LDL [164].

## 10 - Alterações no metabolismo das lipoproteínas associadas com modificações nas concentrações das apoLps

As apoLps, como já foi referido, desempenham importantes funções:

- são componentes estruturais das Lps.
- são componentes transportadores proteicos dos lípidos.
- são activadores ou inibidores de várias enzimas que actuam no metabolismo das Lps.
- são ligantes na interacção receptor-Lp.

As apoLps A-I e A-II são fundamentais para a integridade estrutural das HDL, enquanto a apo B-100 desempenha a mesma função nas VLDL e LDL, parecendo ser a apo B-48 fundamental para a formação das quilomicras. A apo A-I e apo C são activadoras de LCAT, enzima responsável pela esterificação do colesterol. A apo A-II eleva a actividade enzimática da LH, sendo a apo C-II fundamental para a normal actividade da LPL, cuja actividade também é aumentada pela Apo H (B<sup>2</sup> glicoproteína I), enquanto a apo E inibe esta activação.

A LPL é fundamental para a hidrólise dos triglicéridos em quilomicras e VLDL, enquanto que a LH actua sobre os triglicéridos e fosfolípidos metabolizando-os em VLDL, LDL e HDL. Apo C-III activa a esfingomielinase dos lisossomas.

A apo E parece ser um importante mediador entre os receptores hepáticos e a tomada de Lps ricas em triglicéridos, sendo apo B-100 crucial para esta ligação, e penetração, assim como para a regulação da actividade de HMG-CoA-redutase pelas LDL.

**Interconversão das lipoproteínas.** Muitos foram os estudos que permitiram compreender a complexa interconversão que as Lps sofrem no plasma, nos tecidos e órgãos. As quilomicras formadas no intestino contêm apo A-I, apo A-II, apo A-IV e apo B-48, e rapidamente captam apo C-I, apo C-II e apo C-III e vão para o plasma, onde as apoLps constituintes das quilomicras são transferidas principalmente para as HDL durante a lipólise dos triglicéridos das quilomicras. Por seu turno, a apo B-48 permanece nas partículas e a apo E é-lhes adicionada.

As quilomicras "remnants" formadas são tomadas pelo fígado pelos receptores hepáticos de apo E. O intestino e o fígado sintetizam directamente partículas de HDL contendo apo A-I. O fígado sintetiza VLDL contendo apo B-100. Estas partículas captam as apoLps C e E. Durante o catabolismo das VLDL, a apo E e apo C são transferidas para as HDL, enquanto as apo B ficam com as VLDL na sua passagem a LDL. Nos indivíduos normais quase toda a apo B-100 das LDL resulta da síntese das VLDL. No entanto, em alguns estados patológicos, uma quantidade significativa das apo B das VLDL não é transferida para as LDL, como na hiperlipoproteinemia do tipo V, mas é catabolizada directamente, enquanto na HF homozigótica uma grande fracção das apo B-100 das LDL deriva das VLDL por um caminho independente. As LDL são catabolizadas pelo tecido periférico, pelo fígado, via receptores apo B-100 na superfície celular, assim como por um mecanismo de depuração não específico. As HDL são importantes na tomada de lípidos, especialmente colesterol livre, dos tecidos periféricos, transportando-os para o fígado. Por isso, valores elevados de concentrações plasmáticas de LDL e baixos de HDL estão associadas a aumento de risco de doença arterio-coronária (DAC) [171].

Analisemos agora as alterações do metabolismo das Lps associadas com alterações nas concentrações das apoLps.

**Ausência de apolipoproteínas.** Esta alteração patológica é caracterizada pela ausência de apoproteínas detectáveis por métodos imunquímicos e verifica-se em 4 estados de dislipoproteinemias.

- Abetalipoproteinemia ou hipobetalipoproteinemia homogigótica, em que se verifica ausência de apoLp B, estando também diminuídas as concentrações de apo A-I, apo A-II, apo C e apo D; a concentração de apo E está dentro dos valores normais, a relação molar apo C-I/apo C-III é inversa da encontrada em indivíduos normais. Os indivíduos com esta alteração não sintetizam nem segregam apo B, não libertam quilomicras, VLDL ou LDL no plasma, possuem ataxia, retinites pigmentosas, acantose e deficiência em ácidos gordos essenciais e em vitaminas lipossolúveis. Após autopsia, estes indivíduos não apresentam arterosclerose [172].

- Na deficiência familiar de apo C-II em que existe ausência de apoLp C-II, as concentrações de apoLp A-I, A-II, são inferiores aos valores normais, enquanto os valores de apo C-III e Apo E são superiores.

- Na deficiência familiar de apo E, em que existe ausência da apoLp E, verifica-se apenas um leve aumento na concentração de apo B e apo C-I.

A quarta alteração caracteriza-se pela ausência de apoLps A-I e C-III, estando também muito diminuídas as concentrações de apo A-II, C-I, C-II, D, E, enquanto a concentração de apo B é normal ou levemente aumentada. Esta alteração apresenta duas variantes, ambas com DAC precoce. A variante II difere da variante I por falta de xantomas e por haver deficiência de vitamina E e de ácidos gordos essenciais no plasma. A determinação das concentrações das apolipoproteínas nesta categoria de dislipoproteinemias pode ser usado como um critério de diagnóstico absoluto para identificar a alteração no transporte lipídico [173].

**Deficiência em apolipoproteínas.** A doença de Tangier é caracterizada por concentrações baixas de HDL no plasma e conseqüentemente aumento de DCV e de doenças cérebro-vasculares. A concentração plasmática de apo A-I e A-II, em indivíduos com esta doença, é ligeiramente inferior à dos indivíduos controlo. Pensa-se ser uma alteração recessiva autossómica controlada por um único "locus genético"; possivelmente verifica-se uma inibição da ligação de apo A-I aos outros constituintes das HDL e uma mais rápida degradação da apo A-I.

Segundo os trabalhos de Kay e col. [157], as apo A-I isoladas de indivíduos com doença de Tangier são estruturalmente diferentes das apo A-I isoladas de pessoas normais. Zannis e col. [157] referiram que as isoproteínas plasmáticas de apo A-I em indivíduos com a doença de Tangier estejam em diferentes proporções do que a dos indivíduos saudáveis. Alaupovic e col. [173] demonstraram recentemente que os indivíduos com esta doença têm diminuída a actividade da LPL e que as suas VLDL são substratos menos eficientes para a LPL do que as correspondentes Lps ricas em triglicéridos de indivíduos normais.

**Hipobetalipoproteinemia.** Os doentes heterozigóticos com hipobetalipoproteinemia têm concentrações muito baixas de apo B, estando as concentrações das outras apoLps dentro dos valores normais; os valores da razão apo C-I/apo C-III são semelhantes aos encontrados nas abetalipoproteinemias.

Nas hipobetalipoproteinemias, os heterozigotos têm 50% dos valores de LDL e apo B, sendo uma doença autossómica co-dominante. Suplementos de vitamina A e E podem prevenir as complicações neurológicas e oftalmológicas desta doença. Os doentes homozigóticos com esta alteração têm valores de colesterol e de

triglicéridos <60 mg/dl, e quantidades não detectáveis ou vestígios de quilomicras, VLDL ou LDL no plasma. Uma variante desta alteração é uma abetalipoproteinemia com valores normais de triglicéridos, em que os doentes podem segregar apo B-48, mas não apo B-100, resultando daqui valores pós-prandiais de triglicéridos normais mas acentuada hipercolesterolemia. Esta alteração está associada a atrasos mentais e deficiência de vitamina E [172].

Uma forma especial de hipobetalipoproteinemia foi descrita por Charlotte Anderson [175], em 1961, numa criança que sofria de má absorção lipídica, incapacidade de se desenvolver, e ausência de quilomicras no plasma após ingestão de lípidos. Os indivíduos com esta doença apresentam ausência pós-prandial de quilomicras e apo B-48, valores moderadamente baixos de VLDL, LDL e apo B-100, e habitualmente valores baixos de HDL e apo A-I. Alguns doentes apresentam composição anormal das apoLps da HDL2.

**Deficiência em lecitina-colesterol-aciltransferase (EC 2.3.1.43).** Esta deficiência é caracterizada por concentrações baixas de apo A-I, apo A-II, apo B, apo C-I, apo C-II, mas valores próximos do normal em apo C-III, apo D e apo E. O Quadro 12 resume o que até agora foi dito.

No grupo de doentes com deficiência em LCAT ainda se incluem casos com deficiências em HDL com xantomas planares, hipoalfalipoproteinemia familiar, doença de olho de peixe e doentes com a variante apo A-I-Milano [173].

A apo A-I-Milano é um exemplo verdadeiro de alelismo e foi descrita em doentes com hipertrigliceridemia. Ao contrário das apo A-I das pessoas saudáveis, as apo A-I-Milano contêm cisteína e são mais rapidamente metabolizadas do que as apo A-I de pessoas normais, as apo A-I de indivíduos com a doença de Tangier também são rapidamente metabolizadas [157].

Em indivíduos com deficiência moderada de HDL e concentrações anormais de apo A-I foram referidas algumas variantes, por focagem isoeléctrica. Entre estas variantes temos a apo A-I de Marburg, Giessen e várias variantes de Munster, assim como a já referida variante de Milano. Nestas variantes verificam-se substituições específicas de aminoácidos dentro da apo A-I [172].

Neste grupo de dislipoproteinemias, as alterações nas concentrações das apoLps não podem ser usadas como critério de diagnóstico absoluto; contudo, em conjugação com outros ensaios bioquímicos, fornece dados importantes para a caracterização das respectivas dislipoproteinemias.

**Alterações verificadas nas concentrações das lipoproteínas nas hiperlipoproteinemias primárias.** Os doentes com hiperlipoproteinemia de tipo I têm acentuada diminuição nas concentrações de apo A-I e apo A-II, pequena diminuição nas concentrações de apo B e apo D, e aumentos significativos nas concentrações de apo C e apo E. Os doentes com hiperlipoproteinemia de tipo II A apresentam elevadas concentrações de apo B, estando as concentrações de apo A-I, apo A-II, apo D significativamente diminuídas e as de apo C-II, apo C-III e apo E aumentadas.

Na hiperlipoproteinemia de tipo II B verificam-se aumentos da concentração de apo B e apo E, embora em grau inferior ao verificado na hiperlipoproteinemia IIA; por outro lado, o aumento verificado nas apo C-II e C-III excede o verificado no fenotipo IIA. A concentração de apo A-I é mais baixa, mas a concentração de apo A-II é mais alta do que no fenotipo IIA ou nos indivíduos controlos normais, resultando os

Doenças	Apolipoproteínas									
	A-I	A-II	B	C	C-I	C-II	C-III	E	D	
Abetalipoproteinemia ou hipobetalipoproteinemia homocigótica	↓	↓	0	↓				→	↓	
Deficiência familiar de apolipoproteinemia C-II	↓	↓				0	↑	↑		
Deficiência familiar de apolipoproteinemia E			↗		↗			0		
Ausência das apolipoproteínas A-I e C-III	0	↓↓	↗		↓↓	↓↓	0	↓↓	↓↓	
Doença de Tangier	↓	↓								
Hipobetalipoproteinemia heterocigótica	→	→	↓↓	→	→	→	→	→	→	
Deficiência em lecitina-colesterol-acil-transferase	↓	↓	↓		↓	↓	→	→	→	
Componente	↗ Pouco elevado	→ Normal	↘ Pouco diminuído							
	↑ Aumentado		↓ Diminuído							
	↑↑ Muito aumentado	0 Ausente	↓↓ Muito diminuído							

**Quadro 12:** Alteração das concentrações das diferentes apolipoproteínas verificadas em alguns estados patológicos.

valores mais baixos da razão apo A-I/apo A-II, entre todas as hiperlipoproteinemias primárias. Nos fenótipos com hipertrigliceridemia de tipo III, IV e V, as concentrações de apo A-I e apo A -II estão diminuídas e as concentrações de apo B, C-II, C-III e E estão aumentadas em relação às concentrações destas apoLps nos indivíduos com valores lipídicos normais. Contudo, o fenótipo V é caracterizado por valores mais elevados de apo B e apo C do que as concentrações dessas apoLps nos tipos III e IV. Os doentes com hiperlipoproteinemia de tipo III têm concentrações mais elevadas de apo C do que os pacientes com hiperlipoproteinemias de tipo IV, e concentrações mais elevadas de apo E do que as encontradas nos fenótipos IV e V [173].

Segundo Alaupovic e col. [173], parece haver quatro grupos característicos nas hiperlipoproteínas primárias:

O primeiro grupo, designado **B:E**, é caracterizado por um aumento marcado da concentração de apo B, acompanhado por um aumento moderado de apo E, não se verificando modificações nas concentrações de apo C. Estas alterações são típicas no fenótipo IIA.

O segundo grupo, designado **B:C**, é caracterizado por um aumento moderado nas concentrações de apo B, e um aumento de duas a três vezes na concentração de apo C-II e apo C-III. O pequeno aumento na concentração de apo E não é proporcional às alterações de concentração verificadas em apo C-II e apo C-III. Estas alterações encontram-se mais frequentemente entre pacientes classificados nos fenótipos IIB e IV. Normalmente, no tipo II B encontramos valores mais altos nas concentrações de apo B do que no tipo IV.

O terceiro grupo, designado por **B:C:E**, é típico dos fenótipos III e V e é caracterizado por um aumento moderado de apo B, e um aumento de três ou quatro vezes nas concentrações de apo C e apo E. Os doentes do tipo V parecem ter concentrações mais altas de apo B e apo C do que os doentes do tipo III. Os doentes do tipo I, caracterizados por concentrações semelhantes de apo C e E, têm concentrações de apo B significativamente mais baixos do que os pacientes do tipo III e V.

O quarto grupo, designado por **C:E**, apresenta, apenas, um acentuado aumento da apo C e apo E. O Quadro 13 resume as alterações verificadas nas concentrações de apoLps nos diferentes fenótipos das hiperlipoproteinemias primárias. Os doentes com HF heterozigótica apresentam acentuado aumento nas concentrações de apo B e aumento moderado em apo E (grupo **B:E**).

Pacientes com deficiência familiar da LPL são caracterizados pelo grupo **C:E**, apresentando aumento significativo nas concentrações de apo C e apo E como no fenótipo I, as concentrações das apo A-I, apo A-II e apo B são consideravelmente mais baixas que as concentrações encontradas nos indivíduos controles normais.

Ao contrário, doentes com deficiência familiar da LH, têm concentrações normais de apo A-I e A-II, mas as concentrações de apoLps B, C-II, C-III e E são duas a três vezes superiores às concentrações normais (grupo **B:C:E** com concentrações de apo semelhantes às encontradas na HF).

O perfil apolipoproteico de doentes com hipertrigliceridemia familiar é semelhante ao do tipo IV, excepto ao verificarem-se maiores concentrações de apo C, e por isso valores mais baixos da razão molar apo B/apo C-II. Os doentes com hiperlipidemia familiar combinada têm valores levemente mais altos de apo B e mais baixos de apo C do que os doentes com hipertrigliceridemia familiar.

Doenças	Apolipoproteínas									Grupos segundo Alaupovic
	A-I	A-II	B	C	C-I	C-II	C-III	E	D	
Hiperbetalipoproteinemias primárias										
Tipo I	↓↓	↓↓	↘	↑↑				↑↑	↘	C:E
Tipo II A	↓	↓	↑↑	→		↑	↑	↑	↓	B:E
Tipo II B	↓↓	↗	↑			↑↑	↑↑	↑		B:C
Tipo III	↓	↓	↑	↑↑		↑	↑	↑↑		B:C:E
Tipo IV	↓	↓	↑	↑		↑	↑	↑		B:C
Tipo V	↓	↓	↑↑	↑↑		↑↑	↑↑	↑		B:C:E

Componente	↗ Pouco elevado	→ Normal	↘ Pouco diminuído
	↑ Aumentado		↓ Diminuído
	↑↑ Muito aumentado	○ Ausente	↓↓ Muito diminuído

**Quadro 13:** Alteração das concentrações apolipoproteicas verificadas nos diferentes fenotipos das hiperlipoproteinemias primárias.

O Quadro 14 resume as alterações verificadas nas concentrações das apolipoproteinemias em algumas doenças características das hiperlipoproteinemias primárias.

As determinações dos perfis das apoLps nas hiperlipoproteinemias primárias não pode ser usado como um critério absoluto na identificação dos fenotipos hiperlipoproteicos, com a excepção dos casos de deficiência familiar de LPL e de hipercolesterolemia. No entanto, estas determinações podem fornecer informações úteis e indicações possíveis sobre a natureza química e acumulação das partículas lipoproteicas [173]

**Alterações verificadas nas concentrações das apolipoproteínas nas hiperlipoproteinemias secundárias.** Nos indivíduos com diabetes mellitus, incluídos no tipo I de hiperlipoproteinemias, as concentrações de apo A-I e apo A-II estão normais ou com valores levemente inferiores, mas os valores de apo B aumentam consideravelmente. Em doentes com diabetes mellitus insulino-dependentes, bem controlados, as concentrações de apo A-I e apo B estão dentro dos valores normais, mas as concentrações de apo C-III estão leve mas significativamente aumentados em relação aos controlos não diabéticos.

Doentes com hiperlipoproteíemia de tipo II incluem 85-90% de todos os diabéticos; esta sub-classe de diabéticos ceto-resistentes, representam uma alteração heterogénea no metabolismo dos hidratos de carbono, associada frequentemente a obesidade, e em vários graus com hiperglicemia e hipertrigliceridemia. Como é óbvio, a concentração dos lípidos e das apoLps será influenciada pela heterogeneidade das alterações metabólicas, dos factores genéticos e dos factores ambientais. Ao contrário dos diabéticos insulino-dependentes que reagem dum forma relativamente uniforme à administração de insulina, os vários tratamentos usados nos diabéticos incluídos no tipo II exercem diferentes efeitos sobre as concentrações dos lípidos e das apoLps. Encontraram-se valores moderadamente elevados, mas estatisticamente significativos, de apo B, C-III e E [173].

Doentes com insuficiência renal crónica têm concentração reduzida de apo B e apo C-I, aumento de concentração de apo C-II e principalmente de apo C-III; as concentrações de apo E estão diminuídas, principalmente em pacientes masculinos. Pacientes com síndrome nefrótica apresentam concentrações extremamente elevadas de apo B; os valores de apo C-II, C-III e E estão duas a três vezes aumentados e os valores de apo A-I e apo A-II ou são normais ou estão diminuídos.

As alterações na concentração das apoLps nos indivíduos com doença de armazenamento de glicogénio incluídos no tipo I, são semelhantes aos encontrados no síndrome nefrótico, excepto na concentração de apo B que é normalmente mais baixa e as concentrações de apo A-I e apo A-II estão levemente mais elevadas; a modificação mais característica, nesta alteração metabólica é o aumento nas concentrações de apo C-III, mesmo em doentes com concentrações quase normais de apo B e apo E. Os indivíduos com esta doença, incluídos no tipo III, têm também um acentuado aumento na concentração de apo B, sendo mais baixas do que as encontradas em doentes no armazenamento de glicogénio de tipo I.

**Doenças do fígado.** O fígado é um dos maiores produtores de apoLps e Lps, e devido a isso das alterações patológicas deste órgão resultam inevitavelmente modificações das concentrações das apoLps no plasma.

Na hepatite aguda verifica-se diminuição nas concentrações de apo A-I e apo A-II, aumentos acentuados de apo B, e aumentos moderados de apo E; na fase da convalescência, os valores voltam ao normal. Na hepatite crónica também se

Doenças	Apolipoproteínas								Grupos segundo Alaupovic
	A-I	A-II	B	C	C-I	C-II	C-III	E	
Hiperbetalipoproteinemias primárias									
Hipercolesterolemia familiar heterozigótica			↑↑					↑	B:E
Deficiência familiar de lipoproteína-lipase	↓	↓	↓	↑↑				↑↑	C:E
Deficiência familiar de lipase hepática	→	→	↑			↑	↑	↑	B:C:E
Hipertrigliceridemia familiar	↓	↓	↑	↑↑		↑↑	↑	↑	B:C
Hiperlipidemia familiar combinada			↗	↑					
Componente	↗ Pouco elevado	→ Normal	↘ Pouco diminuído						
	↑ Aumentado		↓ Diminuído						
	↑↑ Muito aumentado	0 Ausente	↓↓ Muito diminuído						

**Quadro 14:** Alterações nas concentrações das apolipoproteinemias em algumas doenças características das hiperlipoproteinemias primárias.

verificam diminuições nas concentrações de apo A-I e apo A-II, sendo os valores de apo B inferiores ao normal.

Doentes com cirrose hepática têm valores significativamente diminuídos de apo A-I e apo A-II, não apresentando odificação, ou apresentando apenas ligeiras alterações, na concentração de apo B; são normais os valores de apo C-III e apo E. Nos doentes com cirrose biliar primária encontram-se valores geralmente diminuídos de apo A-I e apo A-II, levemente diminuídos de apo B e aumentados de apo C-II e apo E; os valores de apo C-III estavam aumentados em alguns doentes, estando noutros dentro dos valores normais [173].

Os doentes com cancro hepático caracterizam-se por concentrações diminuídas de apo A-I e apo A-II, concentrações aumentadas de apo B e E, e concentrações normais de apo C-III. Doentes com metástases cancerosas no fígado apresentam moderada redução nas concentrações de apo A-I e apo A-II e pequeno aumento nas concentrações de apo B e apo E.

O Quadro 15 resume as alterações nas concentrações das apolipoproteínas nas hiperlipoproteinemias secundárias.

**Citosterolemia.** Esta alteração metabólica é caracterizada pela presença de quantidades anormalmente elevadas de esteróides no sangue, e tem como origem uma absorção anormal de esteróides vegetais da dieta, remoção diminuída de citosterol do sangue e diminuição da conversão de citosterol em ácidos biliares; aparecem nestes doentes tendões e xantomas tuberosos nas primeiras décadas de vida. É uma doença rara, existindo cerca de 18 casos descritos na literatura. Foi primeiramente referida por Bhachattya e Connor como uma alteração lipídica e do metabolismo lipoproteico, no qual as concentrações lipídicas estavam dentro dos valores normais, porém, posteriormente, Kwiterovich e col. descreveram casos de citosterolemia frequentemente acompanhados de elevação dos valores de LDLc e apolipoproteína B. A presença de valores elevados de apo B, particularmente em indivíduos com valores lipídicos normais ou doentes com hipercolesterolemia moderada com xantomas, sugere a presença de citosterolemia, cujo diagnóstico definitivo é feito pela verificação de presença de esteróides vegetais no plasma [86].

**Hiperalfalipoproteinemia.** Os indivíduos com esta alteração apresentam valores elevados de HDLc, devido principalmente a um aumento da fracção HDL<sub>2</sub>, os valores de apo A-I estão muito elevados, ente 156-318 mg/dl. Os valores de triglicéridos séricos estão, regra geral normais. Os valores de colesterol total podem estar moderadamente elevados, o que se deve ao aumento de HDLc; os valores de LDLc estão também normais. Os indivíduos com esta alteração são candidatos a uma vida mais longa, apresentando baixa hipótese de sofrerem de DIC, a actividade da sua LPLé elevada e o valor do "turnover" do colesterol é mais baixo do que nos indivíduos normais [176].

Doenças	Apolipoproteínas						
	A-I	A-II	B	C-I	C-II	C-III	E
Doenças indutoras de hiperlipoproteinemias secundárias							
Diabetes mellitus (tipo I)	→↘	→↘	↑				
Diabetes mellitus insulino-dependente	→		→			↗	
Diabetes ceto-resistentes (tipo II)			↗			↗	↗
Insuficiência renal crónica			↓	↓	↑	↑↑	↓
Síndrome nefrótico	→↓	→↓	↑↑		↑	↑	↑
Doença de armazenamento de glicogénio (tipo I)	→↘	→↘	↑			↑↑	↗
Doença de armazenamento de glicogénio (tipo III)	→↘	→↘	↗			↑	↑
Hepatite aguda	↓	↓	↑↑				↗
Hepatite crónica	↓	↓	↘				
Cirrose hepática	↓	↓	→↘			→	→
Câncer hepático	↓	↓	↑			→	↑
Metástases cancerosas no fígado	↘	↘	↗				↗
Cirrose biliar primária	↓	↓	↘		↑	→↑	↑
Componente	↗ Pouco elevado	→ Normal	↘ Pouco diminuído				
	↑ Aumentado		↓ Diminuído				
	↑↑ Muito aumentado	0 Ausente	↓↓ Muito diminuído				

**Quadro 15:** Alterações verificadas nas concentrações das apolipoproteínas nas hiperlipoproteinemias secundárias.

## 11 - Alterações lipoproteicas

Embora nos respectivos capítulos se tivessem abordado as alterações patológicas relacionadas com as respectivas alterações lipídicas ou proteicas das Lps, tentar-se-á, a seguir, associar e relembrar resumidamente essa mesma patologia.

O aparecimento da aterosclerose e conseqüentemente de DCV está intimamente relacionado com alterações no metabolismo das Lps, o que origina modificações nas concentrações normais dos lípidos e Lps plasmáticas. Não restam dúvidas de que concentrações elevadas de colesterol, LDLc, TG, apoLp B e diminuição nas concentrações de HDLc e apoLp A estão fortemente relacionadas com o risco de aparecimento de DCV. A verificação de que as concentrações do colesterol das HDL2 apresentam correlação fortemente negativa com o grau de aterosclerose coronária, poderá ser mais um passo importante nos estudos relacionados com a fisiopatologia da aterosclerose.

Nas hiperlipoproteinemias primárias, as modificações das concentrações lipídicas e lipoproteicas plasmáticas tem a sua origem em alterações no metabolismo das Lps. Nas hiperlipoproteinemias secundárias são diferentes as patologias que vão provocar alterações no metabolismo lipídico.

Em 1967, Fredrickson e col. estabelecem a primeira classificação de hiperlipoproteinemias, classificação essa que ainda hoje é a base do diagnóstico e tratamento das hiperlipoproteinemias [177].

### Hiperlipoproteinemias

Para compreender melhor as hiperlipoproteinemias teremos mais uma vez necessidade de relembrar o metabolismo lipídico no indivíduo saudável (Fig. 36): o colesterol e TG exógenos (da dieta) dão origem no intestino às quilomicras, que sob a acção da LPL se transformam nas partículas "remnants" (VLDL e LDL), que vão para o fígado, principal responsável pela síntese e catabolismo das Lps endógenas (HDL, VLDL e LDL). As VLDL e LDL transportam o colesterol do fígado até aos tecidos periféricos, sendo o HDL responsável pelo retorno do colesterol periférico ao fígado, para posterior excreção na forma de sais biliares.

**Hiperlipoproteinemia de tipo I.** A hiperlipoproteinemia de tipo I, designada por hiperquilomicronemia familiar, é uma doença autossómica recessiva. É devida a um defeito metabólico hereditário que consiste numa deficiência na actividade da LPL, responsável pela depuração das partículas ricas em TG da circulação sanguínea (Fig.37). Pode também existir deficiência da apolipoproteína C-II. Esta doença está associada a uma intolerância à dieta lipídica desde os primeiros anos de infância. A sintomatologia clínica é caracterizada por intensas erupções cutâneas, lipemia retinal, dores abdominais e pancreatite.

As alterações bioquímicas da hiperlipoproteinemia de tipo I consistem em concentrações de TG muito elevadas (mesmo em jejum), podendo em alguns casos ultrapassar os 4000 mg/dl. As concentrações de CT podem ser normais ou estarem aumentadas; as concentrações de HDLc podem ser normais ou estarem diminuídas. As concentrações de LDLc mantêm-se dentro dos limites normais. Verifica-se um aumento nas concentrações de apoLp B48 e A-IV; as concentrações de apo C-II podem estar diminuídas ou aumentadas [178]. Esta hiperlipoproteinemia não é aterogénica, mas há risco muito elevado de o doente vir a ter pancreatite aguda.

### Transporte dos lípidos plasmáticos

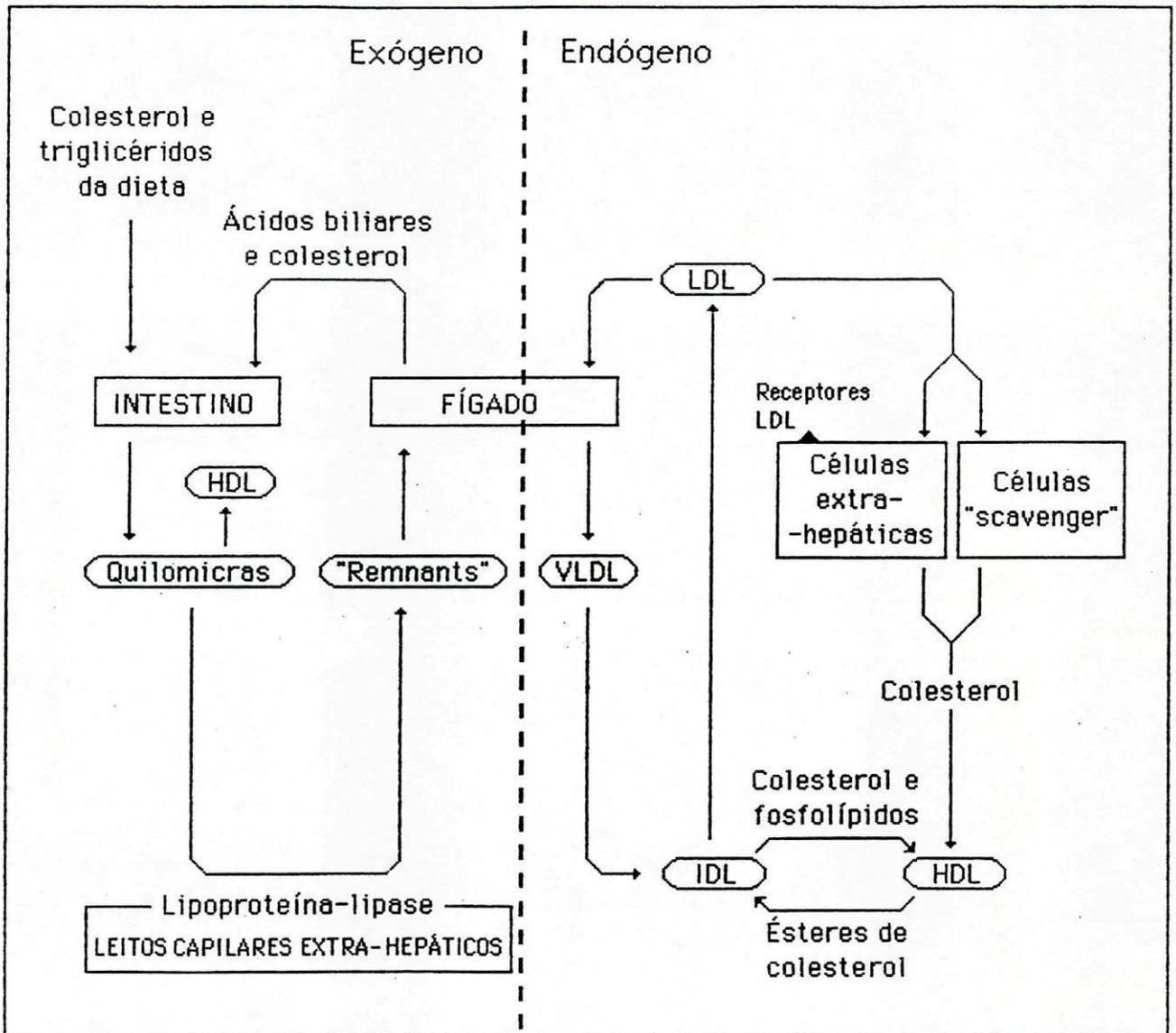


Figura 36. Metabolismo normal dos lípidos plasmáticos.

## Hiperlipoproteinemia de Tipo I

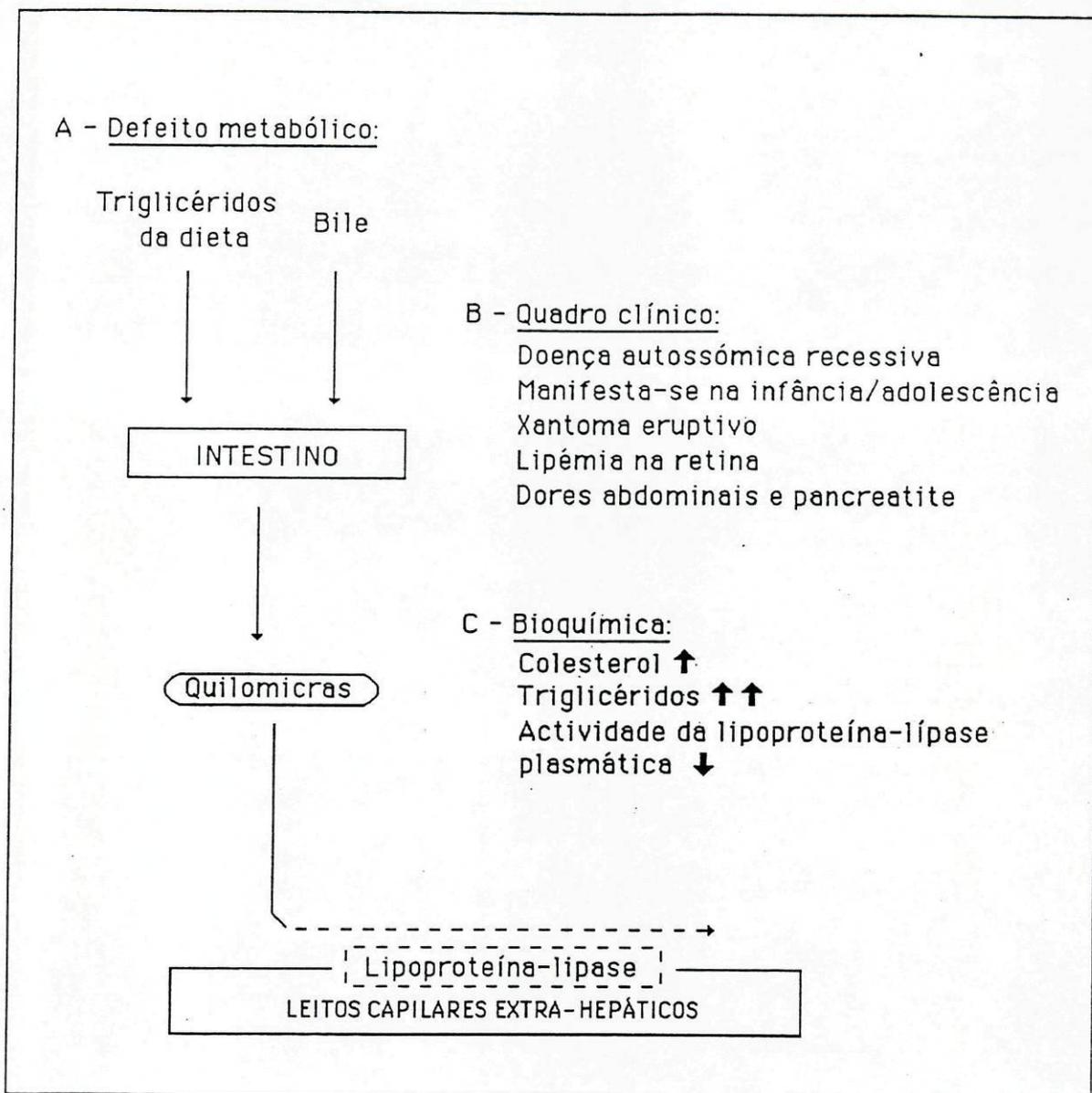


Figura 37. Características da hiperlipoproteinemia de tipo I [177].

A pancreatite e os diabetes mellitus podem induzir hiperlipoproteinemias de tipo I.

**Hiperlipoproteinemias de tipo II.** A hiperlipoproteinemia tipo de II, também designada por HF, é uma doença hereditária transmitida de modo autossômico dominante. No indivíduo normal, quando as necessidades orgânicas são elevadas, os receptores de LDL são activados de forma a acelerar a assimilação de LDL. Quando a célula tem o seu reservatório de colesterol completo, o mecanismo de activação dos receptores cessa de forma a evitar os efeitos tóxicos da acumulação de colesterol. A escassez ou a ausência de receptores de LDL são a causa da HF (Fig. 38) [177].

Os doentes com HF podem ser homozigóticos, tendo total ausência de receptores de LDL (as concentrações de LDLc podem chegar a 700 mg/dl), apresentam xantomas tendinosos e arco lipídico da córnea na infância, e sofrem de DCV antes dos 30 anos; ou podem ser heterozigóticos, tendo deficiente actividade dos receptores de LDL, podendo apresentar valores de LDLc duas vezes superiores às concentrações normais. O aparecimento dos xantomas tendinosos e do arco lipémico córneo verifica-se no fim da adolescência, podendo verificar-se insuficiência coronária perto dos 40 anos.

As hiperlipoproteinemias de tipo II subdividem-se em tipo II-A e II-B. No tipo II-A observam-se concentrações elevadas de colesterol (raramente normais), valores normais de TG, concentrações normais ou diminuídas de HDLc e concentrações aumentadas de LDLc e apo B100. No tipo II-B verifica-se um aumento nas concentrações de LDL, VLDL, TG, LDLc, apo B100 e colesterol (nalguns casos pouco aumentado), estando os valores de HDLc diminuídos ou normais [178]. Os indivíduos do tipo II (A e B) apresentam elevada tendência para sofrerem de doença vascular prematura. Podem ser causa de hiperlipoproteinemias tipo II-A e II-B [179] doenças como hipotireoidismo, síndrome nefrótico e obstrução hepática.

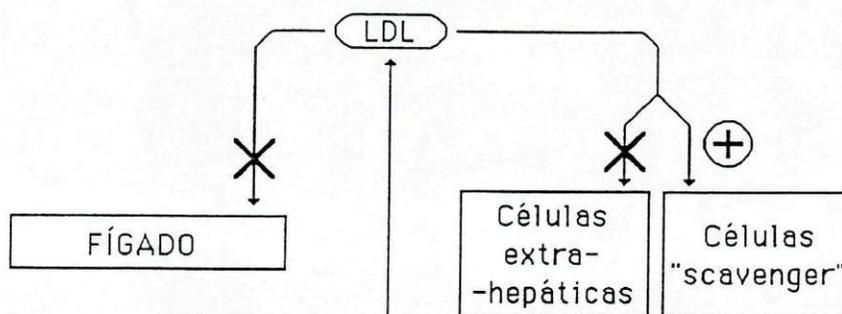
**Hiperlipoproteinemia de tipo III.** A hiperlipoproteinemia de tipo III é também designada por disbetalipoprotei-nemia familiar, doença na remoção dos "remnants" ou doença da "floating beta". Nesta doença existe um defeito metabólico que diminui a entrada das VLDL e "remnants" IDL para o fígado, assim como está diminuída a passagem de IDL (proveniente das VLDL hepáticas) a LDL (Fig.39) [178]. Normalmente, as quilomicras e VLDL separam-se das LDL por ultracentrifugação, mas os indivíduos com esta doença apresentam uma fracção lipoproteica com propriedades físico-químicas intermédias entre as VLDL e LDL que possuem valores de colesterol e mobilidade electroforética semelhantes às LDL e características de flutuação das VLDL.

Relembremos aqui que as apo E podem ser separadas em três variantes designadas por apo E2, E3, e E4, conforme as diferentes localizações de arginina e cisteína nos respectivos aminoácidos constituintes. Deste polimorfismo resultam três constelações homozigóticas: E2/E2, E3/E3, E4/E4, e três constelações heterozigóticas E2/E3, E2/E4, E3/E4.

Dos doentes com disbetalipoproteinemia, 95% são homozigóticos para E2/E2, tornando-se evidente que a apo E desempenha um papel muito importante nos receptores das células periféricas e nos receptores hepáticos [180], visto que embora exista em muito pequena quantidade, desempenha um papel fundamental na depuração das VLDL "remnants" e IDL "remnants". É de notar, no entanto, que a alteração da apo E se encontra apenas em 1% da população, e só uma pequena percentagem desses indivíduos sofrem de disbetalipoproteinemia, o que leva a

## Hiperlipoproteinemia de Tipo II

A - Defeito metabólico:



B - Quadro clínico:

Doença autossômica dominante  
Xantomas tubulares e tendinosos  
Doença vascular prematura

C - Bioquímica:

Colesterol ↑  
Deficiência ou ausência de  
receptores das LDL  
Catabolismo das LDL ↓

Figura 38. Características da hiperlipoproteinemia de tipo II [177].

### Hiperlipoproteinemia de Tipo III

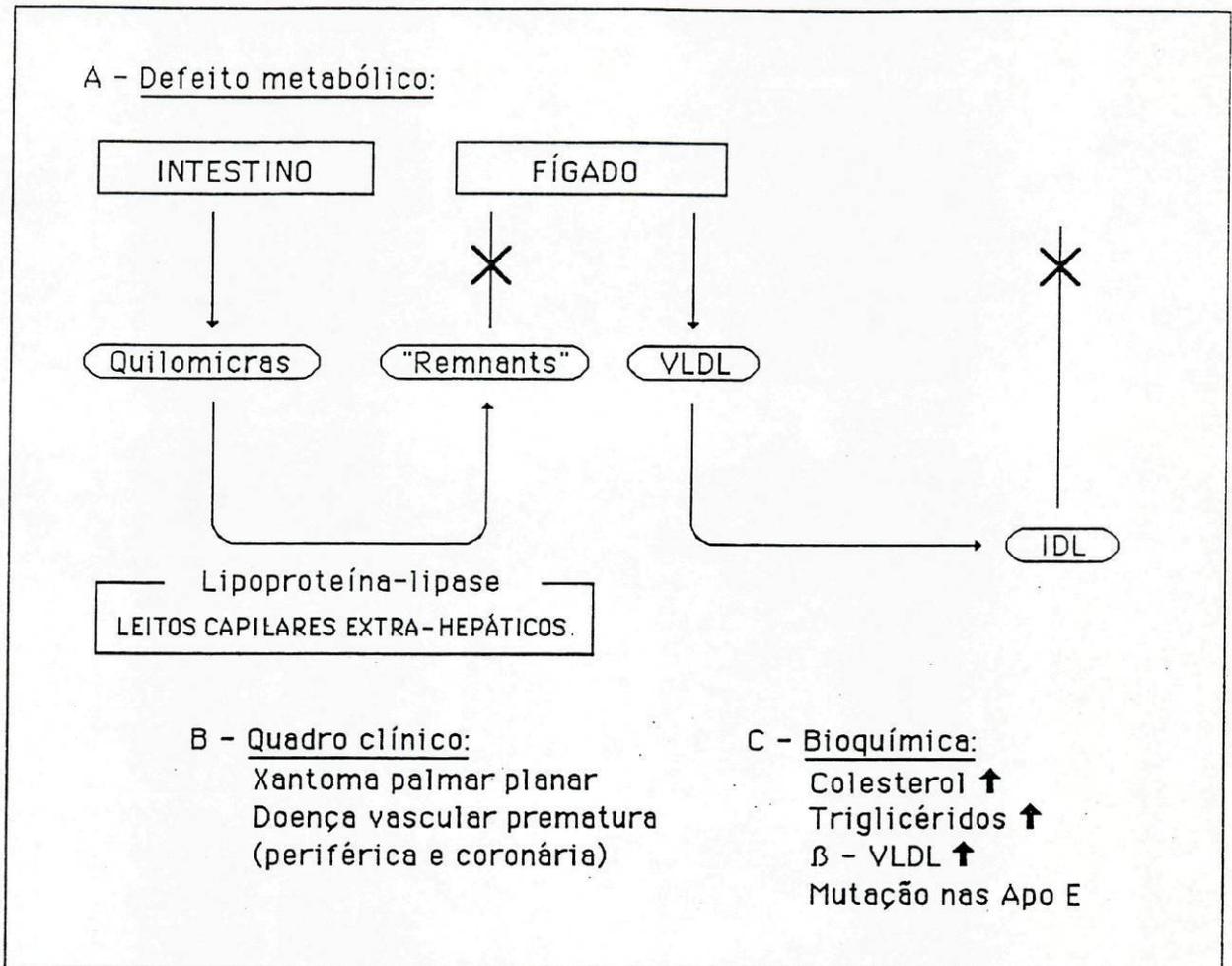


Figura 39. Características da hiperlipoproteinemia de tipo III [177].

acreditar que é necessário existirem factores agravantes do meio ambiente que provoquem o aparecimento da doença [177].

Nestes doentes observam-se concentrações elevadas de CT e TG, apo E-II e E-III, concentrações normais ou diminuídas de HDLc e LDLc e concentrações diminuídas de apo E-IV [178]. De realçar que estes doentes, embora apresentem valores diminuídos de LDLc, manifestam elevada tendência para a aterosclerose prematura nos vasos periféricos, o que poderá ter como causa o aumento que se verifica nas concentrações de VLDL "remnants" (que são as únicas que são capazes de iniciar a formação das células "foam" em culturas celulares dos macrófagos). Quando adultos, os indivíduos com esta patologia podem apresentar xantomas planares e tuberosos. Doenças hepáticas, diabetes, hipertiroidismo podem induzir esta doença [179].

**Hiperlipoproteinemia de tipo IV.** A hiperlipoproteinemia de tipo IV, também designada por hipertrigliceridemia familiar, hipertrigliceridemia endógena ou hiperlipidemia familiar combinada, é caracterizada por uma elevação das concentrações de VLDL de origem hepática (Fig.40) [177]. Alguns doentes têm aumentada a taxa de síntese das VLDL, outros têm diminuída a capacidade de catabolizar as VLDL. As concentrações de CT podem ser normais ou pouco aumentadas. As concentrações dos TG e apo B100 estão aumentadas; os valores de HDLc podem ser normais ou estarem diminuídos, a concentração de LDLc não sofre alteração e a concentração de apo C-II pode estar aumentada ou diminuída. Estes indivíduos apresentam um risco aumentado de virem a sofrer de DIC [178].

Podem ser causadores de hiperlipoproteinemias secundárias: pancreatite, intolerância à glucose, hipertensão, hiperuricemia, síndrome nefrótico, hipotiroidismo, alterações no armazenamento de glicogénio e o uso de contraceptivos orais. Esta alteração patológica pode estar associada ao excesso de ingestão calórica na dieta ou ao consumo excessivo de álcool [179].

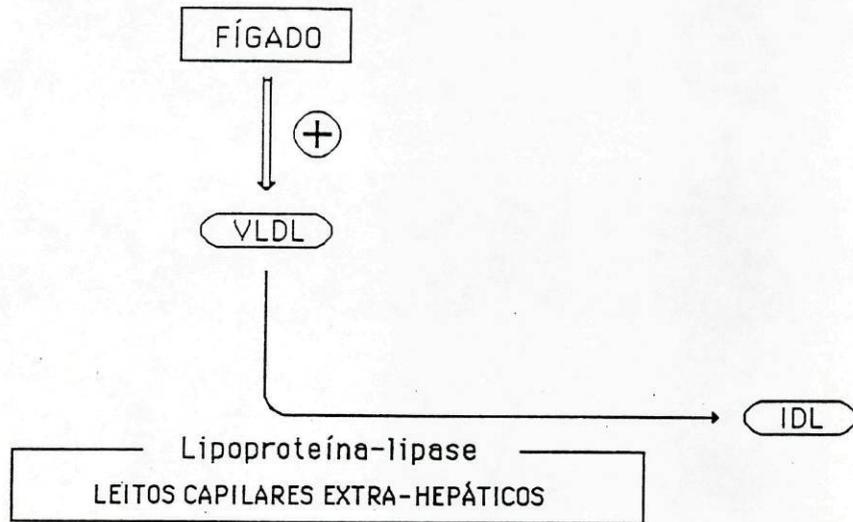
**Hiperlipoproteinemia de tipo V.** A hiperlipoproteinemia de tipo V é também designada por hipertrigliceridemia exógena ou hiperlipoproteinemia mista. Caracteriza-se pelo aumento simultâneo das concentrações das quilomicras e VLDL (Fig. 41) [177]. Não se realiza o catabolismo eficiente das partículas ricas em TG, alguns doentes apresentam uma deficiente actividade da LPL; outros têm a actividade desta enzima normal, mas apresentam uma deficiência genética em apo C-II (cofactor enzimático). Nestes casos, a administração de pequenas quantidades de apo C-II ou de plasma de indivíduos normais, rapidamente repõe as concentrações dos TG em valores normais [177].

Os sinais clínicos de hiperlipoproteinemia de tipo V surgem no adulto: podem aparecer xantomas eruptivos, hepatomegalia e pancreatite. Muitas vezes está associado à ingestão excessiva de álcool. Estes doentes apresentam valores de CT normais ou levemente aumentados, concentrações muito elevadas de TG, concentrações normais ou diminuídas de HDLc, concentrações normais de LDLc e elevadas de apoLp B48 e B100, donde resulta um risco aumentado de aparecimento de DHC. [178]. Também neste grupo, podem induzir o aparecimento da doença a pancreatite, a intolerância à glucose, a hipertensão e a hiperuricemia [179].

De realçar que existem casos descritos de indivíduos com DCC que apresentam valores elevados nas concentrações de apo B associados a concentrações normais ou diminuídas de apo A-I, assim como concentrações normais de LDLc associadas a concentrações elevadas de apo B. Doentes com HF e hipertrigliceridemia têm concentrações elevadas de apo B100 [180] e embora não exista a

## Hiperlipoproteinemia de Tipo IV

A - Defeito metabólico:



B - Quadro clínico:  
Risco aumentado  
de doença arterial  
coronária

C - Bioquímica:  
Triglicéridos ↑  
Composição de  
VLDL normal

**Figura 40.** Características da hiperlipoproteinemia de tipo IV [177].

## Hiperlipoproteinemia de Tipo V

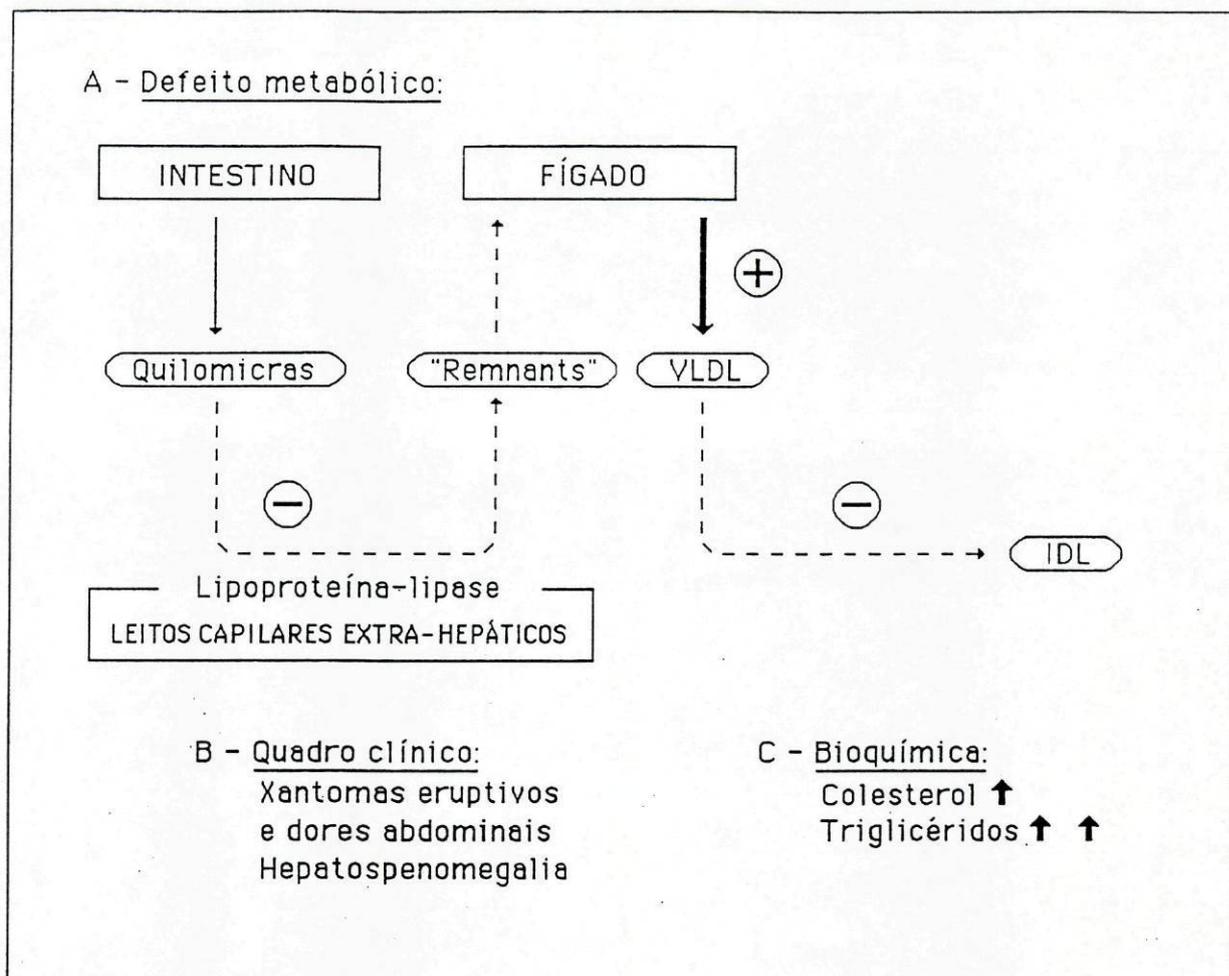


Figura 41. Características da hiperlipoproteinemia de tipo V [177].

certeza absoluta quanto ao significado clínico das reduções da concentração de apo A-I, sabe-se que a total ausência desta apoLp ou a associação da ausência de apo A-I e C-III está claramente ligada à DCC. A deficiência de apo C-II, embora cause hipertrigliceridemia e hiperquilomiconemia, não origina aterosclerose prematura.

**Hiperalfalipoproteinemia.** Além dos cinco grupos mencionados, existe uma alteração designada por hiperalfalipoproteinemia ou HDL hiperlipidemia que é caracterizada por concentrações normais ou pouco aumentadas de CT, concentrações normais de TG e LDLc e elevadas de HDLc, apo A-I e apo A-II. Estes indivíduos apresentam um risco muito diminuído de DCC.

## Hipolipoproteinemias

**Abetalipoproteinemia.** A abetalipoproteinemia é caracterizada por ausência de LDL e conseqüentemente de LDLc, de VLDL e de quilomicras, concentrações muito diminuídas de CT e apo B100, concentrações diminuídas de TG e valores normais de HDLc. Embora os indivíduos com esta patologia possuam risco diminuído de DIC, esta alteração está associada a perturbações neurológicas, atrasos de crescimento, má absorção de gorduras e conseqüente emagrecimento. Os doentes apresentam acantocitose, retina pigmentosa e ataxia [178, 179].

**Hipobetalipoproteinemia.** A hipobetalipoproteinemia é caracterizada por concentrações diminuídas de LDL (e obviamente de LDLc) e de apo B100. Poderá ser devida a uma mutação no gene apo B que impeça a transcrição da total extensão da molécula de B100 [181]. As concentrações de CT estão normais ou pouco diminuídas, as concentrações dos TG e de HDLc são normais. Também estes indivíduos apresentam risco reduzido quanto a DIC [178]. A origem da doença pode ser genética ou devida a uma deficiente capacidade de absorção.

**Alfalipoproteinemia.** A alfa-lipoproteinemia ou doença de Tangier, é uma doença recessiva autossômica. Estes doentes apresentam amígdalas aumentadas com depósitos alaranjados de ésteres de colesterol, podendo alguns apresentar adicionalmente neuropatia periférica, hepatoesplenomegalia e depósito lipídico na córnea. As concentrações de VLDL e das quilomicras podem estar elevadas [179]. Porém, a característica bioquímica principal é a ausência sérica de HDL (e HDLc), concentrações muito diminuídas de apo AI e AII, concentrações diminuídas ou normais de CT e concentrações normais de TG e LDLc. O risco de DCV está muito aumentado nestes doentes [178].

**Hipoalfalipoproteinemia.** A hipoalfalipoproteinemia é caracterizada por uma diminuição das concentrações de HDL, HDLc, apolp A-I e A-II, concentrações normais ou aumentadas de TG e de LDLc, podendo as concentrações de CT estar normais, aumentadas ou diminuídas. Também neste caso o risco de DCV está aumentado [178].

**Deficiência familiar de lecitina-colesterol-acetil-transferase (LCAT).** Como já foi referido, a LCAT é a enzima plasmática responsável pela formação dos ésteres de colesterol. Na deficiência familiar de LCAT, a formação de ésteres de colesterol é reduzida e há acumulação de ésteres de colesterol no fígado, rins, baço, córneas e paredes arteriais. É reservado o prognóstico para estes doentes visto poderem verificar-se falha renal e degeneração vascular [179]. Também podem apresentar a córnea opaca, anemia e proteinúria [182]. Os doentes apresentam concentrações diminuídas de HDL, de apo A-I e A-II, concentração normal ou aumentada de TG; as concentrações de CT e LDLc podem estar normais, diminuídas ou aumentadas, e a

concentração de HDLc está muito reduzida [178].

**Doença de olho de peixe.** A doença de olho de peixe, a qual parece ser uma variante da deficiência de LCAT e está associada a concentrações significativamente reduzidas de HDL e concentrações aumentadas de TG [182].

### **Hiperapobetalipoproteinemia**

Na hiperapo B (hiperapobetalipoproteinemia), fortemente associada à DAC, as concentrações de apo B são superiores a 120 mg/dl, a concentração de LDL na maior parte dos casos situa-se entre 130-160 mg/dl e a razão LDLc/Apo B das LDL é inferior a 1,3. As concentrações lipídicas podem ser normais, pode verificar-se hipertrigliceridemia e em alguns casos hipercolesterolemia. As concentrações de HDLc e apolp A-I estão, na maior parte dos casos, diminuídas. A doença é caracterizada por um grande aumento de partículas pequenas e densas de LDL, devido a um aumento da síntese de LDL seguida de maior aumento da síntese de VLDL e de apolp B. Os sinais clínicos aparecem tardiamente, mas em muitos casos a alteração é detectada pela história familiar de DCV prematura. Esta doença é diferente da hiperlipoproteinemia tipo II da classificação de Frederickson, visto que estes doentes têm normalmente concentrações de LDLc superiores a 190 mg/dl e a razão LDLc/Apo B das LDL situa-se entre 1,3 e 1,6, ou é superior a 1,6 [183].

### **Fenotipos lipoproteicos: classificação de Frederickson**

Os Quadros 16 e 17 resumem o que foi exposto. O Quadro 16 esquematiza os diferentes fenotipos lipoproteicos segundo a classificação de Frederickson. O Quadro 17 descreve as diferentes hipolipoproteinemias.

ALTERAÇÕES LIPOPROTEICAS

HIPERLIPOPROTEINEMIAS

CLASSIFICAÇÃO DE FREDERICKSON

TIPO	LIPOPROTEINAS	DOENÇAS	PLASMA	C. T.	T. G.	HDL <sub>c</sub>	LDL <sub>c</sub>	APOLIPROTEINAS	ELECTROFORESE	ASSOCIAÇÃO CLÍNICA
I	↑ QUILOMICRAS	Deficiência de LPL Deficiência da Apo C-II Síndrome de quilomicronemia		→ ↑	↑↑	→ ↓	→	↑ B48, ↑ AIV ↓ CII		Pancreatite
IIA	↑ LDL	Hipercolesterolemia familiar Hipercolesterolemia comum Hiperlipidemia familiar combinada		↑ rara / →	→	→ ↓	↑	↑ B100		Risco muito aumentado de D.I.C.
IIB	↑ LDL ↑ VLDL	Hipercolesterolemia familiar Hiperlipidemia familiar combinada		↑ rara / →	↑	→ ↓	↑	↑ B100		Aumento de risco de D.I.C.
III	↑ IDL	Anomalias da apo E Hipercolesterolemia de "remnant" Dis-beta-lipoproteina familiar		↑	↑	→ ↓	→ ↓	↑ EII ↓ EIII, ↓ EIV		Aumento de risco de D.C.V.
IV	↑ VLDL	Hipertrigliceridemia familiar Hiperlipidemia familiar combinada		→ ↗	↑	→ ↓	→	↑ ↓ CII ↑ B100		Aumento de risco de D.I.C.. Pancreatite. Intolerância à glicose. Hipertensão. Hiperuricemia.
V	↑ VLDL ↑ QUILOMICRAS	Hipertrigliceridemia familiar Hiperlipidemia familiar combinada Síndrome de quilomicronemia		→ ↗	↑↑	→ ↓	→	↑ ↓ CII ↑ B48, ↑ B100		
	↑ HDL	Hiper-alfa-lipoproteinemia HDL hiperlipidemia		→ ↗	→	↑	→	↑ A1, ↑ AII		Diminuição do risco de D.I.C.

C.T. - Colesterol ; T.G. - Triglicerídeos; HDL<sub>c</sub> - "High density" lipoproteínas colesterol; LDL<sub>c</sub> - "Low density" lipoproteínas colesterol; Quilo - Quilomicras;

D.I.C. - doença isquêmica cardíaca; D.V.C. - doença cardíaco-vascular.

Chave : → normal; ↗ pouco elevado; ↑ elevado; ↑↑ muito elevado; ↓ diminuído.

Quadro 16. Alterações lipoproteicas: hiperlipoproteinemias segundo a classificação de Frederickson. (Adaptado de Tietz, Fundamentals of Clinical Chemistry, W. B. Saunders, 1987).

HIPOLIPOPROTEINEMIAS

LIPOPROTEINAS	DOENÇAS	PLASMA	C.T.	T.G.	HDL <sub>c</sub>	LDL <sub>c</sub>	LIPOPROTEINAS	ELECTROFORESE	ASSOCIAÇÃO
Ausência de LDL	A-beta-lipoproteinemia	Claro	↓ ↓	↓	→	Não	↓ ↓ B100	Ausência da banda beta	Sintomas neurológicos Atrazos no crescimento
↓ LDL	Hipo-beta-lipoproteinemia	Claro	↘ ↓	→	→	↓	↓ B100	Diminuição da banda beta	Diminuição do risco de D.I.C.
Ausência de HDL	A-alfa-lipoproteinemia Doença de Tangier	Claro	→ ↓	→	Não	→	↓ ↓ AI, AII	Ausência da banda alfa	Aumento do risco de D.I.C.
↓ HDL	Hipo-alfa-lipoproteinemia	Claro	→ ↑ ↓	→ ↑	↓	→ ↑	↓ AI, AII	Diminuição da banda alfa	Aumento do risco de D.I.C.
↓ HDL	Deficiência de LCAT	Claro	→ ↑ ↓	→ ↑	↓ ↓	→ ↑ ↓	↓ AI, AII	Ausência da banda alfa	Falha renal

C.T. - Colesterol ; T.G. - Triglicerídeos ; HDL<sub>c</sub> - "High density " lipoproteinas colesterol; LDL<sub>c</sub> - " Low density " lipoproteinas colesterol ;  
D.I.C. - Doença isquêmica cardíaca; D.C.V. - Doença cardio-vascular.

Chave : → normal; ↑ aumentado; ↑↑ muito aumentado; ↘ pouco diminuído; ↓ diminuído; ↓↓ muito diminuído.

Quadro 17. Hiperlipoproteinemias (Adaptado de Tietz, Fundamentals of Clinical Chemistry, W. B. Saunders, 1987).

## 12-Terapêutica medicamentosa hipolipêmica

O tratamento medicamentoso tem por fim reduzir as concentrações de Lps aterogênicas e retardar o aparecimento da aterosclerose. As drogas só devem ser administradas a indivíduos de alto risco que continuem a apresentar níveis elevados de lípidos plasmáticos, apesar da dieta adequada e de se ter obtido uma razoável correção da obesidade [185], assim como a correção, no grau do possível de doenças indutoras de hiperlipoproteinemias secundárias. A obesidade tem maior influência sobre as concentrações de VLDL e na diminuição da concentração de HDLc [186].

Não nos podemos esquecer que se uma redução na ingestão de lípidos provoca uma diminuição na concentração de LDL infelizmente provoca também, uma diminuição de HDLc. Nos casos em que a ingestão de gorduras se restringiu a menos de 25% da energia adquirida, verificou-se um aumento nas concentrações de TG e VLDL. Os vegetarianos têm concentrações baixas de HDL. É possível que a função dos receptores LDL se modifique com alterações da dieta.

Observou-se que o colesterol dos crustáceos e moluscos produz um aumento inferior do colesterol sanguíneo do que o seu conteúdo em colesterol. Dietas ricas em fibras, solúveis ou insolúveis, em vegetais e frutas diminui a concentração do CT, e a ingestão de leguminosas diminui a concentração de TG [186].

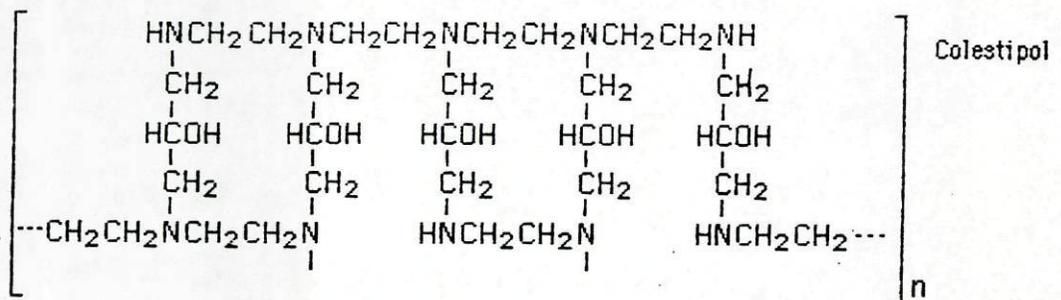
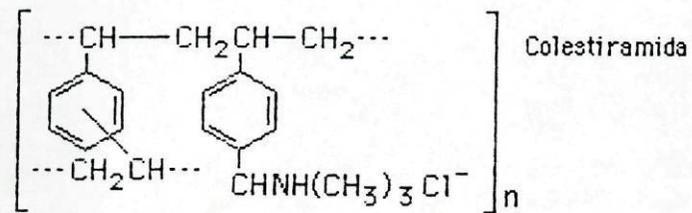
O recurso à terapêutica poderá ser fortemente influenciado pela história familiar, presença ou ausência de outros factores de risco e existência ou não de doença aterosclerótica. Conhecem-se alguns resultados adversos da ingestão de medicamentos: a dextro-tiroxina, apesar de fazer baixar as concentrações de CT, aumenta a taxa de mortalidade nos indivíduos que a tomaram. A administração de clofibrato só provocava uma redução não significativa na taxa de EM não fatais, mas aumenta a taxa de mortalidade por outras doenças. Por isso, a escolha de medicação hipolipêmica deve ser convenientemente ponderada [187].

### Agentes farmacológicos

**Colestiramina e colestipol.** São resinas trocadoras iônicas (Fig.42) sequestradoras dos ácidos biliares, que após administração oral permanecem no tracto gastro-intestinal, não sendo absorvidas e que provocam a descida dos níveis de colesterol porque fixam os ácidos biliares e evitam a sua reabsorção.

Mecanismo de acção. Os ácidos biliares são absorvidos através da mucosa ileal e voltam para o fígado pela veia porta. Quando a circulação entero-hepática normal dos ácidos biliares é interrompida, aumenta a conversão do colesterol hepático em ácidos biliares para compensar a sua eliminação nas fezes.

A produção normal de ácidos biliares, no fígado, a partir do colesterol que varia entre 100-500 mg/dia, aumenta para 1000-3000 mg/dia, com a administração destas drogas. Além deste efeito, como a absorção do colesterol no intestino depende dos ácidos biliares, a absorção do colesterol endógeno pode sofrer uma modesta inibição. O fígado, sob a acção destes medicamentos, aumenta a actividade da HMGCo A redutase (que aumenta a síntese do colesterol), assim como aumenta o número de receptores de LDL na superfície do hepatócito (embora não aumente a produção de LDL), resultando daqui mais colesterol para a síntese dos ácidos biliares. Ao mesmo tempo pode verificar-se aumento da produção de TG das VLDL, do que resulta um leve aumento na concentração dos TG plasmáticos, que não é grave na



**Figura 42.** Estrutura química de resinas trocadoras iônicas que fixam sais biliares.

maior parte dos pacientes, visto os valores regressarem ao normal ao fim de dois meses. Pode no entanto ter efeitos nefastos em indivíduos com concentrações muito elevadas de TG. Estes medicamentos fazem baixar os níveis de LDLc, mas não actuam igualmente sobre as concentrações de apo B nos doentes com hipercolesterolemia, do que resulta um aumento da razão Apo B(das LDL)/colesterol (das LDL). Também se verifica aumento das razões HDL2/HDL3 e apo A-I/apo-A-II.

Acção sobre os lípidos e Lps. Estes medicamentos fazem baixar as concentrações de CT e LDLc e aumentam moderadamente as concentrações do TG, VLDL e HDL.

Efeitos colaterais. A quantidade necessária destes medicamentos é elevada e a ingestão difícil, visto o pó não ser solúvel em líquidos ou alimentos semifluidos. Podem aparecer durante um certo tempo, após administração dos medicamentos, sensação de enchimento ou de secura, arrotos, vômitos e gases intestinais, sintomas que se acentuam se o medicamento não for tomado lentamente. Em alguns pacientes pode aparecer obstipação que normalmente desaparece pela ingestão adicional de laxantes suaves, se tal não acontecer terá que se reduzir ou suspender o uso do medicamento.

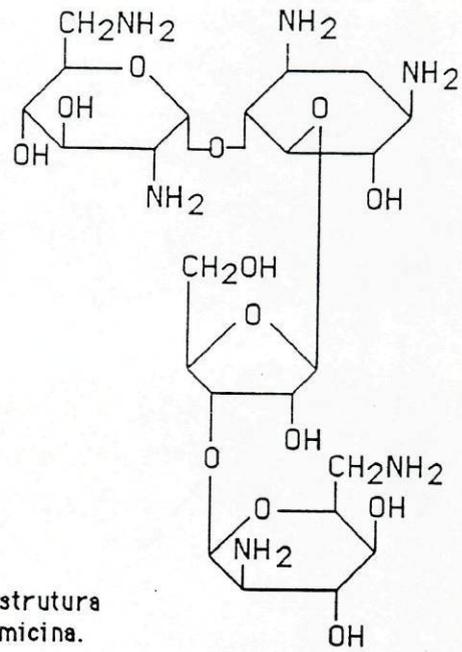
O colestipol e colestiramina têm efeitos mínimos sobre os parâmetros bioquímicos, registando-se apenas pequenas subidas na concentração da fosfatase alcalina, que não ultrapassam os valores normais. Estes dois medicamentos podem prejudicar a absorção de outros medicamentos tais como tiroxina, compostos cumarínicos, tiazida, fenobarbital, digitoxina e tetraciclina, o que se pode evitar tomando estes medicamentos ou uma hora antes ou quatro horas após a ingestão do colestipol (ou colestiramina). É necessário cuidado especial com os pacientes que tomam cumarina, visto que quer o anticoagulante quer a vitamina K podem ser defeituosamente absorvidos. No entanto, a má absorção das vitaminas devido às resinas verifica-se em casos muito raros. Quando usado em pediatria recomenda-se suplemento de ácido fólico. O controlo da protrombina é recomendável para todos os indivíduos com esta medicação [187].

**Neomicina.** Além de antibiótico aminoglicosilado, não absorvível quando administrado oralmente, faz descer moderadamente as concentrações de colesterol (Fig. 43).

Mecanismo de acção. Mais ou menos 3% de neomicina é absorvida e actua bloqueando a absorção intestinal do colesterol, visto a droga reagir com o colesterol e aniões dos ácidos gordos, formando precipitados. Essa inibição pode aumentar a eliminação do colesterol fazendo descer os níveis séricos mesmo em doentes sujeitos a dietas pobres em colesterol. No entanto, devido a ser um antibiótico, não se exclui a hipótese de a neomicina provocar alterações, ainda não conhecidas, na flora bacteriana intestinal que diminuam a absorção do colesterol.

Efeitos colaterais. A administração a longo prazo é bem tolerada, mas em muitos doentes verifica-se diarreia nos primeiros quinze dias de medicação, o que se pode evitar com tratamento adicional (difenoxilato combinado com atropina). A administração de digoxina nos casos necessários, deve ser feita uma hora antes da neomicina para se evitar os efeitos desta sobre a absorção da digoxina. São recomendáveis ensaios frequentes das funções auditivas e doseamento da creatinina.

Efeitos sobre os lípidos e Lps. Diminui as concentrações de CT e LDLc, não actuando sobre as concentrações dos TG, VLDL e HDLc [187].



**Figura 43.** Estrutura química da neomicina.

**Ácido nicotínico.** É uma vitamina B, também designada por niacina, e tem a propriedade de descer os níveis de colesterol em doses superiores às necessidades vitamínicas diárias (Fig. 44). A absorção do ácido nicotínico é quase completa. Com a administração de 1g, após 30 a 60 minutos adquire-se um máximo plasmático de 30mg/dl. No espaço de 6 horas o ácido nicotínico é eliminado na urina.

**Mecanismo de acção.** Não é conhecido, mas pensa-se que a administração da droga diminui a produção de VLDL, o que pode ser a causa da diminuição obtida nas concentrações de LDL. Também se verifica um aumento do catabolismo das VLDL devido ao medicamento. A dose é de 3 a 4,5 g/dia, dividida em 3 a 4 doses ingerida, de preferência no fim das refeições ou com um copo de leite ao deitar para minimizar os efeitos secundários.

**Efeitos colaterais.** A maior parte dos doentes apresenta, meia hora após a ingestão do medicamento, rubefacção acompanhada de prurido. Para minimizar este efeito deve começar por se tomar doses de 100 a 300 mg que vão aumentando progressivamente durante 4 semanas até à dosagem final, desaparecendo estas alterações com o continuar da medicação. Deve evitar-se a ingestão de bebidas alcoólicas e é aconselhável tomar uma aspirina uma hora antes da ingestão do ácido nicotínico como medida profilática. Existem casos descritos de irritação gástrica, elevação das concentrações de ácido úrico, activação de úlceras gástricas, diminuição de tolerância à glucose, problemas dermatológicos, elevação das transaminases, assim como o aparecimento, embora raro, de icterícia e fibrose hepática.

**Efeito sobre os lípidos e Lps séricas.** Redução das concentrações de colesterol e LDL. Nos casos de hipertrigliceridemia tipo III e IV e nas hiperlipoproteinemias de tipo V, as concentrações dos TG descem muito. Nos indivíduos normais observa-se uma descida muito pequena nas concentrações dos TG. Verificam-se elevações nas concentrações de HDLc em indivíduos normais e em hiperlipémicos (exceptuando os doentes do grupo II) [187].

**Probucol.** A obtenção dos níveis plasmáticos desejáveis demora 3 a 4 meses visto haver primeiro uma prévia deposição da droga no tecido adiposo (Fig.45). A dose recomendada é de 250mg/dia.

**Mecanismo de acção.** Aumenta a excreção fecal de LDL, actua sobre a síntese hepática do colesterol. Diminui a síntese de apo A-I e as concentrações de HDL.

**Efeitos colaterais.** Estão descritos casos de diarreias passageiras e nota-se nos eletrocardiogramas um pequeno aumento do intervalo Q.T.

**Efeitos sobre os lípidos e Lps séricas.** Não influencia as concentrações de TG e VLDL. Reduz as concentrações de CT, LDL e HDL (subfracção HDL<sub>2</sub>) e aumenta a razão LDL/HDL. Devido à sua acção ao descer os níveis séricos de HDL, o seu uso tem sido posto em causa [187].

**Derivados do ácido fibríco (fibratos).** Neste grupo estão incluídos os clofibratos (Fig. 46), gemfibrozil (Fig.47), bezafibrato (Fig. 48) e fenofibrato (Fig. 49).

O clofibrato após absorção intestinal transforma-se no composto activo (ácido p-clorofenoxi-isobutírico) que se liga à albumina plasmática e que potencia a acção de qualquer droga ácida que exista no plasma. Tem um tempo de semi-vida de 15 horas e é excretado pela urina.

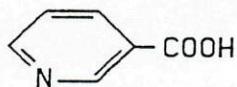


Figura 44. Estrutura do ácido níctico.

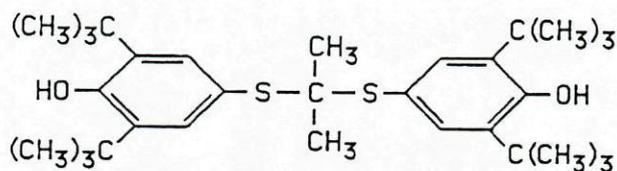


Figura 45. Estrutura do probucol

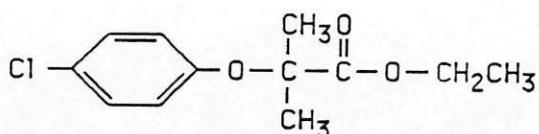


Figura 46. Estrutura do clofibrato

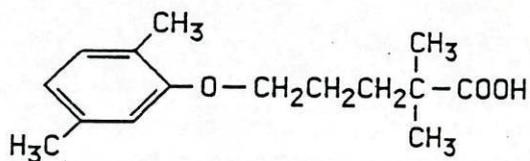


Figura 47. Estrutura do genfibrozil

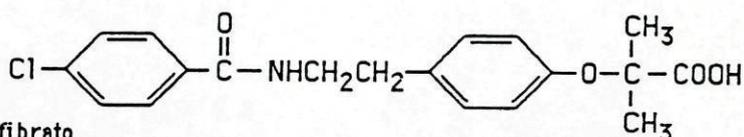


Figura 48. Estrutura do bezafibrato.

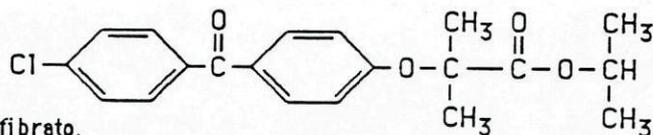


Figura 49. Estrutura do fenofibrato.

**Gemfibrozil:** de fácil absorção, com um tempo de semi-vida de 1,3 horas, é excretado na urina depois de ser metabolizado.

**Bezafibrato:** de fácil absorção, com um tempo de semi-vida de 2,1 horas. Metade da quantidade ingerida é eliminada sem sofrer alterações pela urina e a outra metade é excretada após sofrer transformações metabólicas.

**Fenofibrato:** apenas 30% da dose ingerida é absorvida depois de se tornar activo. A droga activa liga-se à albumina sérica. Desaparece do plasma em duas etapas, a primeira com um tempo de semi-vida de 5 horas e a segunda com um tempo de semi-vida de 27 horas. É eliminada por excreção urinária e por via metabólica, após conjugação do composto activo.

Mecanismo de acção. A principal acção destas drogas consiste em aumentar o catabolismo das Lps ricas em TG. Aumenta a actividade da LPL, promove a lipólise e não actua sobre a LH. Aumenta a excreção fecal de esteróides. Inibe a actividade da HMG CoA redutase. Aumenta a síntese de HDLc, apo A-I e apo A-II [187]. Estimula a actividade dos receptores LDL [188].

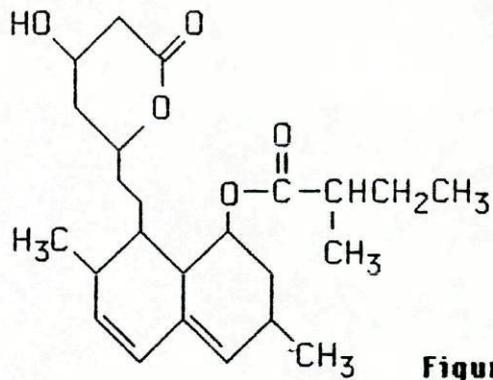
Efeitos sobre os lípidos e Lps séricas. Todos os medicamentos deste grupo reduzem intensamente a concentração dos TG, descem as concentrações de VLDL e LDL e aumentam a concentração de HDL. A acção sobre a concentração de colesterol varia com a droga usada e com a patologia [187].

Efeitos colaterais. Podem surgir vômitos, diarreia, diminuição do líbido, impotência, aumento de apetite e de peso, borbulhas na pele, elevação das concentrações séricas de creatina, fosfocinase e transaminases. Devido a aumentar a secreção de colesterol através da bile, verifica-se um aparecimento de cálculos biliares duplo da observada em indivíduos que não tomaram estes medicamentos. Suspeita-se que o fenofibrato induza o aparecimento de hepatite. Apesar de serem dos medicamentos mais bem tolerados e que diminuem a taxa de mortalidade por DCV [187], um estudo da OMS constatou que o número de mortes por outras doenças (neoplasias, doenças relacionadas com o intestino, fígado e vias biliares) aumentava nos indivíduos que tomavam clofibrato, daí que seja recomendável que o seu uso seja restrito.

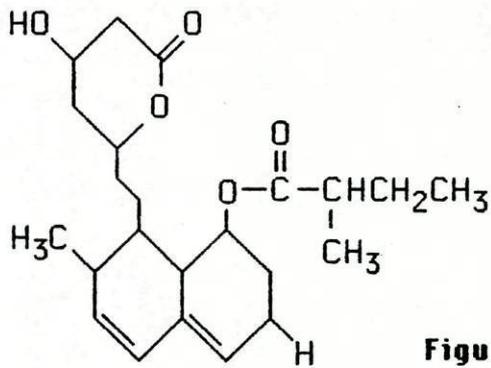
Óleos de peixe. A observação de que os esquimós eram relativamente imunes a aterosclerose e que consumiam grandes quantidades de peixe na dieta fez surgir a hipótese do uso de óleo de peixe para minimizar os efeitos de aterosclerose. No entanto, poderá ser devido a outros efeitos, dos ácidos eicosapentanoico (obtido a partir de peixes de águas frias) e docosa-hexanoico (obtido a partir de peixes de águas temperadas), assim como do ácido linoleico ou ainda a produção de componentes trombogénicos e antitrombogénicos pelas plaquetas e endotélio arterial. Embora esteja comprovado o seu efeito de diminuir as concentrações de TG, talvez por inibição da formação de VLDL hepático, é necessário conferir os benefícios da ingestão destas substâncias, assim como determinar as doses óptimas. Para já, pode recomendar-se o consumo de peixe como protector de DCV, assim como o consumo de gorduras poli-insaturadas (ácido linoleico das plantas) [186].

Efeitos sobre os lípidos e Lps plasmáticas. Diminui as concentrações de TG e VLDL, não actua sobre as concentrações de colesterol e LDL e aumenta levemente os níveis de HDL [188].

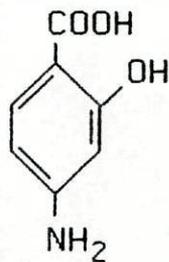
**Mevastatina e lovastatina.** A mevastatina (Fig. 50) e a lovastatina (Fig. 51) são fortes inibidoras da HMG-CoA-redutase [189].



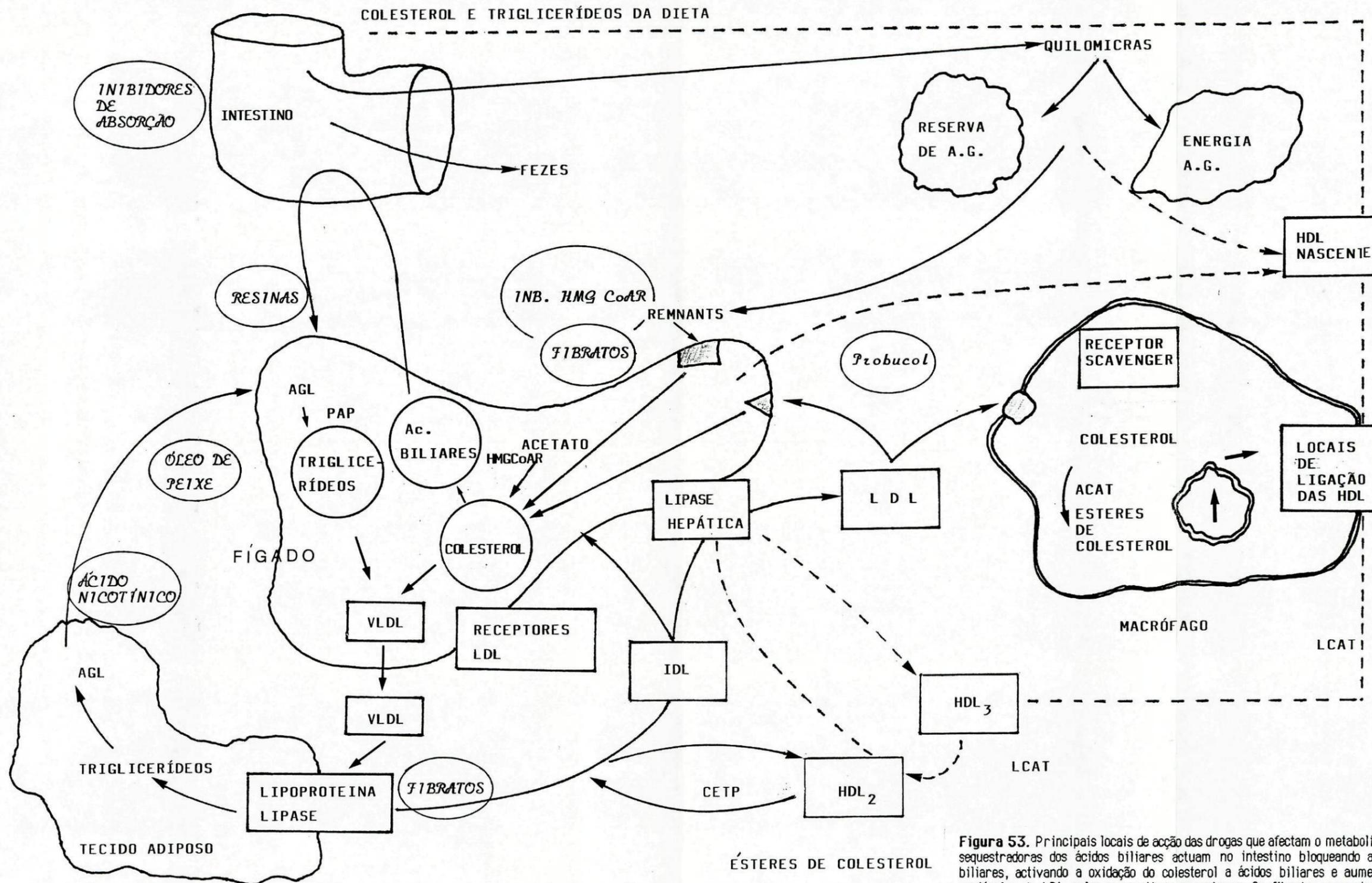
**Figura 50.** Estrutura da mevastatina.



**Figura 51.** Estrutura da lovastatina.



**Figura 52.** Estrutura do ácido p-aminossalicílico.



**Figura 53.** Principais locais de ação das drogas que afectam o metabolismo lipídico. As resinas sequestradoras dos ácidos biliares actuam no intestino bloqueando a reabsorção dos ácidos biliares, activando a oxidação do colesterol a ácidos biliares e aumentando a depuração das partículas de LDL pelos respectivos receptores. Os fibratos aumentam a actividade da LPL, promovem a lipólise, suprimem a actividade da HMG CoA-reductase, o que origina uma estimulação da actividade dos receptores LDL e conseqüentemente aumento da depuração das partículas LDL. O ácido nicotínico inibe a libertação de ácidos gordos do tecido adiposo, suprime a síntese das VLDL e a sua secreção e reduz a síntese das LDL. A lovastatina e mevastatina inibem a HMG CoA-reductase, activam os receptores hepáticos de LDL na depuração destas partículas. Os óleos de peixe reduzem a síntese de TG no fígado e inibem a secreção de VLDL. O probucol inibe a produção de HDL e tem acção antioxidante sobre as LDL. A neomicina bloqueia a absorção intestinal do colesterol e reduz a síntese das LDL.

Mecanismo de acção. Estimulação do catabolismo das LDL por activação dos receptores hepáticos de LDL

Efeitos sobre os lípidos e Lps. Diminuem fortemente os níveis séricos de colesterol, LDL e apo B e segundo Hunninghake e col. [190], aumentam as concentrações de HDL, embora outros autores refiram que não alteram as de HDL, TG e VLDL [188].

Efeitos colaterais. Até ao momento as referências indicam que são drogas bem toleradas, podendo provocar elevações reversíveis nas concentrações das transaminases. Num número restrito de doentes verificou-se aumento da opacidade ocular, sem contudo se verificar perda da correcta acuidade visual, daí o recomendar-se fazer controlos periódicos oftalmológicos e laboratoriais. O efeito destas drogas também se manifestou benéfico em doentes depois de sujeitos a transplante cardíaco [191]. Segundo Federico Mancoia [92], a relação benefício/risco de aterosclerose é positiva para estes medicamentos.

Na Fig. 52 [188] está esquematizado o local de acção dos sequestradores dos ácidos biliares, fibratos, ácido nicotínico, inibidores da HMG-CoA-redutase, óleos de peixe, probucol e inibidores de absorção.

No Quadro 18 está esquematizado o que já foi referido sobre a acção das drogas descritas sobre as concentrações dos lípidos e Lps séricas.

Além destes medicamentos também estão referidos o uso do ácido p-aminossalicílico e de esteróides sintéticos com fins terapêuticos similares.

**Ácido p-aminossalicílico.** Administram-se 6 a 8 g/dia divididos em quatro doses; pode provocar diarreia e mau estar gástrico. Não se conhece o mecanismo de acção desta droga, mas provoca uma descida das concentrações de colesterol. Não actua sobre as concentrações de HDLc e tem efeitos variáveis sobre as concentrações dos TG (Fig. 52).

**Esteróides sintéticos.** Usados na patologia lipídica, estes compostos são derivados 17 $\alpha$ -alquilados da nortestosterona e oxandrolona. Estas drogas actuam por aumento da remoção das Lps ricas em TG. São drogas bem toleradas embora colateralmente possam provocar retenção de fluidos e alterações hepáticas. Actuam sobre os lípidos fazendo baixar as concentrações de TG e HDLc. A sua comercialização para fins lipolíticos ainda não é permitida nos E.U.A. [187].

Em alguns casos de hipercolesterolemia muito severa, recorre-se à administração associadas de duas ou três drogas. Do uso conjunto de ácido nicotínico e colestipol, colestipol e lovastatina, ácido nicotínico e neomicina, obtiveram-se efeitos potencializados da medicação. Da associação de neomicina com colestiramina resulta uma diminuição de obstipação, assim como da associação do procubol com colestipol resulta uma diminuição dos efeitos gastrointestinais.

Os Quadros 19 e 20 referem algumas combinações de drogas e o seu efeito, observado em vários estudos, sobre os valores séricos [187].

Medicamentos	Componentes				
	TG	CT	VLDL	LDL	HDL
Resinas sequestradoras dos ácidos biliares	↗	↓	↗	↓	↗
Neomicina	→	↓	→	↓	→
Ácido nicotínico	↓	↓	↓	↓	↑
Probucol	→	↓	→	↓	↓
Fibratos	↓	↓	↓	↓	↗
Inibidores da HMGCoA-redutase	→	↓	→	↓	→
Óleos de peixe	↓	→	↓	→	↗

Efeito: ↗ Ligeiro aumento    ↓ Diminuição    → Nulo

**Quadro 18.** Acção de medicamentos lipolíticos sobre os lípidos e lipoproteínas séricas humanas.

Drogas associadas	Dose diária	CT	LDLc	HDLc	TG
Acido nicotínico Colestipol	6-7,5 g 30 g	-45%	-55%	+17%	-38%
Acido nicotínico Neomicina	3 g 2 g	-36%	-45%	+14%	-33%
Colestiramina Neomicina	24 g 2 g	-29%	-33%	-11%	-4%
Probucol Colestipol	1 g 20 g	-28%	-29%	-29%	+11%
Lovastatina (mevinolin) Colestipol	30 mg 20 g	-45%	-51%	-2%	+7%

**Quadro 19.** Efeito de algumas drogas combinadas sobre os lípidos e Lps séricas.

Combinação de drogas	Diminuição de LDLc
Lovastatina + ácido nicotínico	49%*
Lovastatina + neomicina	30%
Lovastatina + probucol	42%
Lovastatina + colestipol + ácido nicotínico	62%*
Lovastatina + colestipol + ácido nicotínico	67%*

**Quadro 20:** Ação de algumas combinações de drogas sobre as concentrações de LDLc no soro. (Nos casos assinalados por \*, verificou-se uma diferença significativa ( $p < 0.05$ ) entre o resultado obtido pelas drogas combinadas e o resultado obtido com a administração exclusiva de lovastatina) [193].

## B - MATERIAL E MÉTODOS

### 13 - Bioquímica Clínica no Prognóstico, Diagnóstico e Controle da Aterosclerose

O "Adult Treatment Panel of the National Cholesterol Education Program U.S.A." considera:

Valores desejáveis de concentração de CT < 200 mg/dl  
Limites aceitáveis entre 200-239 mg/dl  
Valores elevados  $\geq$  240 mg/dl

Valores desejáveis de concentração de LDLc < 130 mg/dl  
Limites aceitáveis entre 130-159 mg/dl  
Valores de risco elevado  $\geq$  160 mg/dl.

Estes valores só prognosticam realmente DCV se corresponderem a real concentração lipídica no indivíduo.

Para se fornecerem resultados o mais rigorosos possível é necessário padronizar todas as possíveis variações pré-analíticas, assim como todo o processo analítico. Sabemos que as concentrações do CT e LDLc determinados no inverno são cerca de 2,5% superiores aos obtidos no verão para o mesmo indivíduo. Também já foi referido que a idade, sexo, factores genéticos, modificações de dieta, obesidade, ingestão de álcool e café, uso de tabaco e exercício físico, influenciam os valores séricos dos lípidos do sangue.

Para haver uma melhor padronização, o paciente:

- Deverá manter o seu estilo de vida habitual, não se verificando alterações nem de peso, nem da dieta na altura da colheita.

- Não deverá ingerir álcool nos 2-3 dias que antecedem a colheita do espécimen, visto o álcool aumentar consideravelmente os valores de TG séricos.

- Não deverá, de preferência, executar nenhum exercício físico violento nas 12 horas que antecedem a colheita; porém, no caso de indivíduos habituados a exercício físico, poderão manter essa rotina, evitando exercícios violentos ou corrida nas 3 horas que antecedem a colheita.

- Não deverá ingerir café, natas ou açúcar nas 12 horas que antecedem a colheita.

- No caso de o paciente ser fumador deverá anotar-se o número de cigarros que fuma por dia.

Se possível, realizar duas colheitas, intervaladas, dando o resultado da média. Cooper e col. chegam a sugerir quatro colheitas antes de dar o resultado [40].

Se possível, não tomar medicamentos nos dias anteriores à colheita; se tal for indispensável, anotar no boletim de análises os medicamentos tomados. Os diuréticos produzem um aumento de CT e TG e um pequeno decréscimo na concentração de HDLc. Altas concentrações de vitaminas e de sedativos alteram as concentrações de CT e TG [40]. Drogas anti-hipertensivas e contraceptivos orais

aumentam as concentrações de TG [196]. Temos que ter em conta a influência do "stress" nas determinações lipídicas.

Deverá, o paciente, evitar beber excessiva quantidade de água nas 2-3 horas que antecedem a colheita.

Embora o jejum não seja indispensável para as determinações de CT e HDLc, é indispensável para todas as outras determinações de concentrações lipídicas. O paciente deverá estar calmamente sentado 15 minutos antes da colheita, visto verificar-se aumentos na concentração do CT após o indivíduo estar deitado.

Também se deverá padronizar o tempo de aplicação do garrote, sendo preferível que o garrote seja aberto mal o sangue comece a correr: se uma oclusão de 0,5 a 1 minuto não tem efeitos detectáveis na concentração do CT sérico, após uma oclusão de 2 minutos, os níveis de CT sérico aumentam de 2 a 5%, verificando-se um aumento dos níveis de lípidos séricos de 10-15% após 5 minutos de oclusão.

Evidentemente que os tubos de colheita deverão estar livres de contaminação. No caso de se usar tubos de tipo "vacutainer", escolhe-los com uma pressão não demasiado reduzida.

No caso de se verificarem dificuldades que levem a colheitas demasiado demoradas, tal deverá referir-se, visto a concentração dos TG aumentar se se verificar lesão celular causada por embolia [40].

Sabemos que o glicerol tem influência nas determinações dos TG. Os TG do tecido adiposo, por acção da trigliceridolipase originam ácidos gordos livres e glicerol, que entram na corrente sanguínea. A actividade da trigliceridolipase é potencializada pela adrenalina, glucagina, tiroxina e pela hormona de crescimento. Um aumento na concentração dos TG séricos pode dever-se a um estado de "stress", devido ao efeito da adrenalina sobre as trigliceridolipase [196].

Deverá indicar-se se o espécimen foi colhido por punção venosa ou punção capilar, uma vez que se verificou que os valores séricos de CT e TG eram cerca de 8% inferiores nas amostras de origem capilar, do que nas amostras de origem venosa no mesmo indivíduo.

Apesar de ser mais rápida a obtenção do plasma do que a de soro, concordamos com os que pensam que o soro é o melhor espécimen para a determinação dos constituintes lipídicos, visto os anticoagulantes terem efeitos sobre os constituintes lipídicos: as concentrações determinadas no plasma são inferiores às determinadas no soro. No entanto, podemos executar o doseamento no plasma, quando muito necessário e multiplicar o valor obtido por 1,03, obtendo-se assim a concentração no soro.

É sempre preferível realizar os doseamentos das Lps em soro fresco, para evitar contaminação bacteriana, oxidação, evaporação, continuação da actividade enzimática, exposição a temperaturas elevadas, transferência de CT e TG entre as diferentes Lps. Se tal não for possível, conservar as amostras, convenientemente tapadas no frigorífico. Nunca conservar sangue para o doseamento de lipoproteínas.

As doenças infecciosas e inflamatórias provocam diminuição nas concentrações de CT e de HDLc e um aumento na concentração de TG, assim como traumas e feridas podem causar alterações nos valores lipídicos, devendo as análises ser realizadas quando o indivíduo estiver totalmente restabelecido. O valor do CT

decrece levemente no primeiro trimestre da gravidez, aumentando continuamente durante o segundo e terceiro trimestre.

Após EM os valores do colesterol decrescem, durante 2-3 meses, daí que neste período as determinações do CT, não forneçam os níveis séricos normais do paciente.

Nos casos de hiperlipoproteinemias secundárias (diabetes mellitus, hipertiroidismo, síndrome nefrótica, etc.), deverá assinalar-se a doença no boletim de resultados.

Evidentemente que deverá existir no laboratório um completo programa de controlo de qualidade, sendo controlado todo o equipamento e reagentes usados nos doseamentos, de forma a garantir a precisão e exactidão dos dados analíticos quer fornecidos no mesmo dia quer nas análises determinadas em dias sucessivos.

Os métodos não deverão possuir um C.V. > 5%. Os valores obtidos não deverão afastar-se  $\pm 5\%$  do valor exacto. É necessário confirmar a linearidade dos reagentes usados para os doseamentos, assim como a perfeita actividade das enzimas existentes nos reagentes. A calibração dos aparelhos deverá ser feita com reagentes próprios e nunca com os reagentes de controlo.

Deverá realizar-se a comparação periódica dos resultados obtidos nas amostras com resultados obtidos nas mesmas amostras pelos métodos de referência. Não nos podemos esquecer de que os valores de prognóstico das concentrações de CT foram obtidos com o método de Abell-Kendall [116].

Embora existam vários métodos que fornecem resultados reprodutíveis para as concentrações séricas de CT, podem dar valores que difiram entre 25 e 97 mg/dl, o que traz consequências extremamente importantes: uma amostra com valores normais de 220 mg/ml, doseado por um método químico, pode dar um resultado de 265 mg/dl se determinada enzimaticamente, o que envolve o tratamento ao doente. Semelhantemente, uma diferença de 10 mg/ml na concentração de HDLc representa 50% de diferença no risco de doença, por isso cada vez mais são necessárias determinações rigorosas e comparáveis entre os diferentes laboratórios [102].

Todos os funcionários do laboratório deverão ser convenientemente treinados para as funções que executam e possuir as noções elementares da necessidade de manter os resultados sob controlo. Evidentemente que nenhum resultado deverá sair se os valores não estiverem dentro dos limites de controlo.

Em relação ao doseamento dos TG é necessário estabelecer planos de controlo inter e intralaboratoriais para incrementar a obtenção de resultados comparáveis entre os diferentes laboratórios, assim como padronizar os métodos de doseamento.

Existem vários métodos para separar as diferentes fracções lipoproteicas.

Foi Svedberg, em 1923, que separou partículas de LDL por ultracentrifugação analítica.

Para separar e quantificar as diferentes fracções lipoproteicas os métodos mais correntes são:

Ultracentrifugação usando gradientes de diferentes densidades. Requer

aparelhagem extremamente cara e é um processo muito demorado, sendo impensável o seu uso em análise de rotina (Fig. 54). A amostra ( $d=1,006$ ) é centrifugada a 105.000 g durante 20 horas; no sobrenadante estará a fracção VLDL que se retira. Faz-se nova centrifugação da amostra ( $d=1,063$ ) à mesma velocidade e durante o mesmo tempo, retirando-se agora a fracção LDL. A seguir centrifuga-se novamente a amostra ( $d=1,21$ ) a 105.000 g durante 22 horas e no sobrenadante estará a fracção HDL. Doseia-se o colesterol nas três fracções obtidas. A concentração do LDLc obtêm-se pela seguinte fórmula:

$$\text{LDLc} = \text{Colesterol da fracção } 1,006 - \text{colesterol da fracção } 1,063$$

Ultracentrifugação analítica. (Método recomendado pelo Lipid Research Clinic, U.S.A.). Requer aparelhagem dispendiosa, é relativamente demorado, mas quantifica rigorosamente o LDLc (Fig. 55). A amostra ( $d=1,006$ ) é centrifugada a 105.000 g durante dezoito horas, a 10° C. No sobrenadante obtemos o VLDLc e no subnadante o LDLc mais o HDLc. A uma alíquota do subnadante adiciona-se o reagente precipitante (heparina/cloreto de manganésio). Centrifuga-se durante 30 minutos à temperatura ambiente. A fracção sobrenadante contém o HDLc. Doseia-se o colesterol nas fracções obtidas. Os cálculos realizam-se pelas seguintes fórmulas:

$$\begin{aligned} \text{VLDLc} &= \text{CT} - [\text{LDLc} + \text{HDLc}] \\ \text{LDLc} &= [\text{LDLc} + \text{HDLc}] - \text{HDLc} \end{aligned}$$

Nas amostras extremamente lipémicas (Fig.56), em que a electroforese toma um aspecto de mancha (Fig.57), e em que é impossível quantificar as respectivas subfracções (Fig.58), será necessário recorrer à ultracentrifugação analítica. Na Fig. 59 mostram-se as subfracções separadas (permitindo uma correcta quantificação) nos ballões da direita; nos balões da esquerda estão as fracções de um indivíduo normal.

Precipitação. Normalmente usada nos métodos de rotina, em que se usam vários reagentes precipitantes, a fim de precipitar o LDLc e VLDLc (Fig. 60). À amostra adiciona-se um precipitante. Centrifuga-se e no sobrenadante temos a fracção HDLc. O LDLc é calculado pela fórmula:

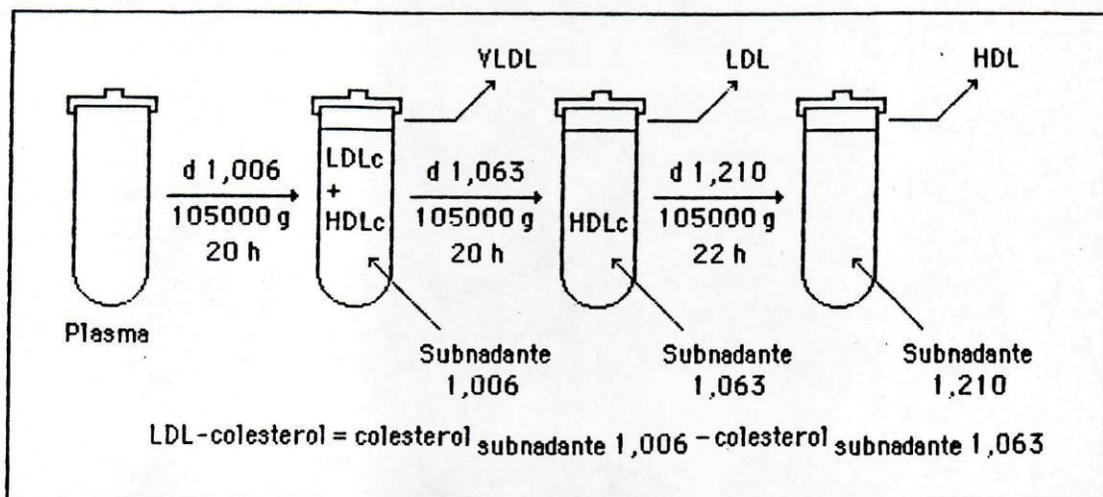
$$\text{LDLc} = \text{CT} - \text{TG}/6 - \text{HDLc}.$$

Para o doseamento do HDLc é preciso que se verifique a total precipitação das VLDLc e LDLc. No caso de no sobrenadante se verificar turvação, Warnick e col. [197], propõem um método de ultrafiltração para resolver este problema. É mais fácil resolvê-lo diluindo as amostras com concentrações de TG >400 mg/dl de forma a garantir a total precipitação das lipoproteínas que contêm apolipoproteína B. Os reagentes usados para a determinação do colesterol devem dar resultados exactos e precisos, para concentrações de colesterol entre 10 e 100 mg/dl.

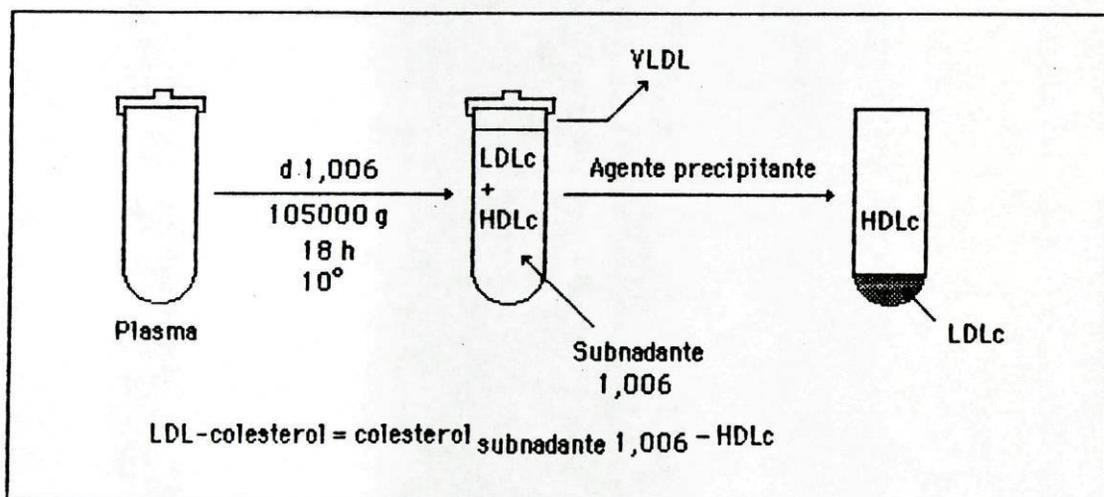
Não nos podemos esquecer de que os resultados obtidos por diferentes métodos não são comparáveis (heparina-MgCl<sub>2</sub>, sulfato de dextrano- MgCl<sub>2</sub>).

A concentração de LDLc pode determinar-se pela fórmula de Fridewald (LDLc = CT - TG/5 - HDLc) ou pela de DeLong [196], mais rigorosa:

$$\text{LDLc} = \text{CT} - \text{TG}/6 - \text{HDLc}$$



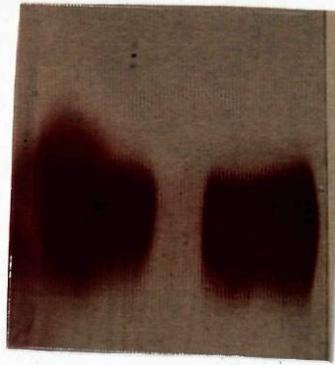
**Figura 54.** Quantificação do LDL-colesterol por ultracentrifugação diferencial.



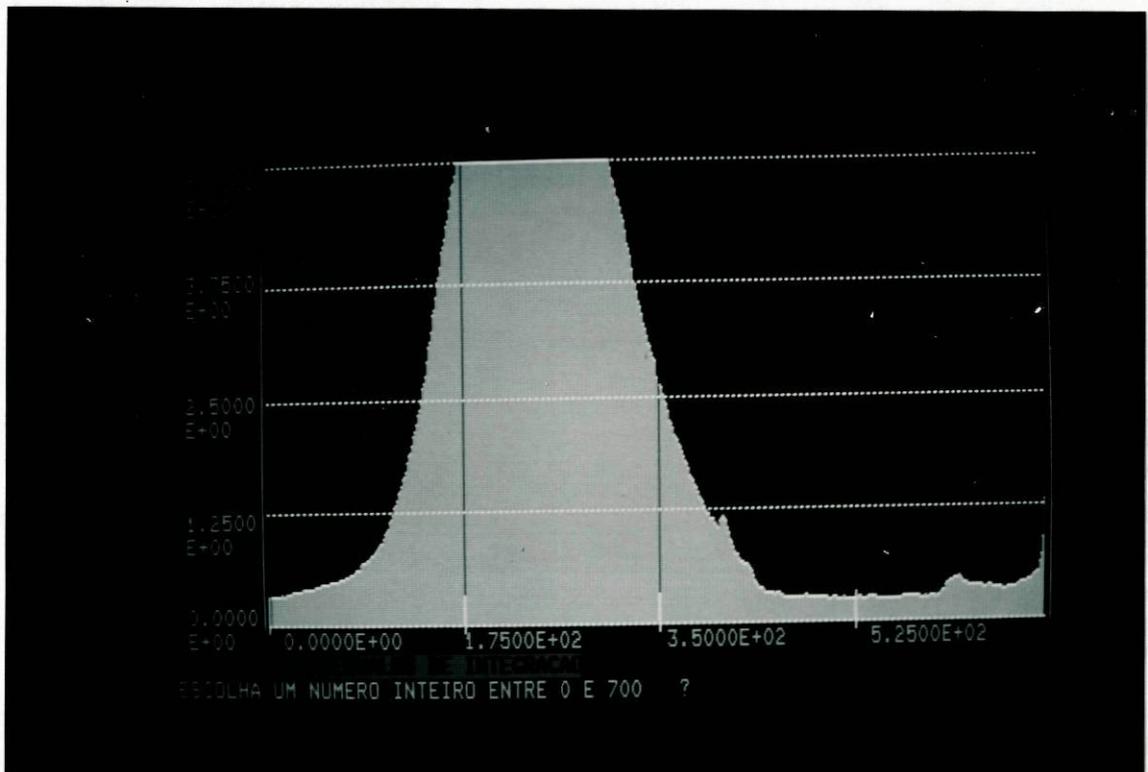
**Figura 55.** Quantificação do LDL-colesterol recomendada pela Lipid Research Clinic.



**Figura 56.** Soro lipémico.



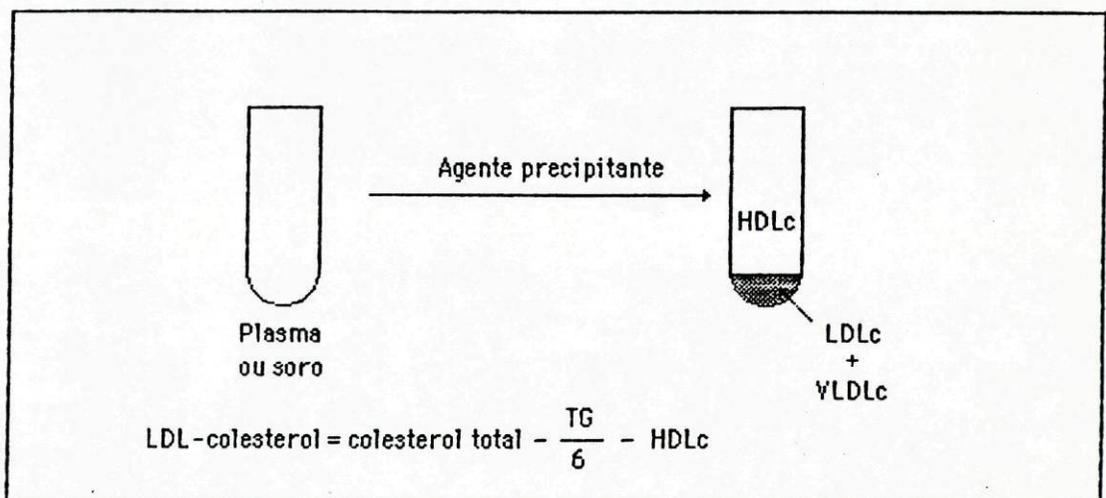
**Figura 57.** Electroforese de um soro de um paciente com hiperlipoproteinemia tipo V.



**Figura 58.** Sinal do densitômetro da electroforese da Fig. 57.



**Figura 59.** Subfracções lipídicas após ultracentrifugação. Os dois balões correspondem a uma pessoa normal, enquanto os dois da direita correspondem ao soro lipêmico mostrado na Fig. 56.



**Figura 60.** Método de rotina para a quantificação do HDL-colesterol.

Ultracentrifugação zonal. Consiste este método em separar Lps segundo as diferentes densidades por ultracentrifugação, usando diferentes gradientes de densidade de soluções de NaBr e KBr. Uma destas soluções é bombeada por um rotor cilíndrico, que gira a 2000 r.p.m., formando-se o gradiente de densidade mais baixa no centro do rotor e aumentando a densidade até à periferia. Uma vez o gradiente formado, a amostra é injectada no rotor e centrifugada entre 170.000 e 250.000 g, durante 15 a 20 horas. A ultracentrifugação zonal é o método de referência para a separação de subfracções das Lps HDL<sub>2</sub>, HDL<sub>3</sub>, VLDL e IDL [198, 199, 200].

As diferentes fracções lipoproteicas podem ser também separadas por diferentes métodos de cromatografia, mas o facto de não existir ainda padronização, e de não se ter provado que os resultados obtidos por estes métodos tenham significado clínico, o seu uso ainda está restringido a investigação laboratorial [22].

Electroforese. Esta técnica incrementou muitíssimo, entre o período de 1950-1975, a análise das Lps, criando as bases que permitiram entender o metabolismo das Lps. A técnica de separar Lps em função das suas diferentes cargas eléctricas serviu de base para a classificação das alterações metabólicas de Frederickson. Para tal muito contribuíram os trabalhos de Lindgren e col., que criaram um método simples (quer quanto à metodologia, quer quanto aos cálculos), de electroforese das Lps [201, 203], obtendo-se resultados, não significativamente diferentes para os valores de HDL, podendo-se verificar-se às vezes pequenas variações nos valores de LDL e VLDL [202]. O método electroforético tem a vantagem de ser simples, de precisar de pequena quantidade de amostra (cerca de 50 µl), devendo usar-se soro fresco; os outros métodos podem usar soro congelado, embora Backorik e col. afirmem que a congelação altere as concentrações de HDL [217]. No entanto, necessitam de 3 a 5 ml de soro [22, 204]. Embora o uso do método electroforético para o cálculo dos valores de LDL, HDL e VLDL esteja em decréscimo, uma vez que neste momento tem maior significado clínico os valores obtidos para HDL<sub>c</sub>, LDL<sub>c</sub> e VLDL<sub>c</sub>, cresce a sua aplicação na determinação da concentração das subfracções das LDL.

Apesar de se saber que as determinações das concentrações das apolipoproteínas poderiam fornecer informações úteis como indicadores de risco de DCV, durante muito tempo constituíram obstáculo para estes doseamentos:

- 1- A falta de consenso quanto ao método ideal
- 2- A falta de padrões apropriados
- 3- A falta de reagentes de qualidade garantida
- 4- Notória disparidade de resultados, de método para método e de laboratório para laboratório, verificando-se aqui as maiores diferenças, segundo os trabalhos de Cooper e col. [205].
- 5- O grande número de apolipoproteínas a ser doseado.
- 6- Falta de capacidade de prognóstico superior aos fornecidos pelas determinações das concentrações lipídicas das Lps [194].

No entanto hoje é totalmente aceite que a determinação da concentração das apolipoproteínas A-I, A-II e B é um dado de diagnóstico auxiliar à determinação das fracções lipídicas.

Existem várias técnicas para o doseamento das apolipoproteínas:

Electroimunoensaio  
Imonodifusão radial  
Nefelometria

Turbidimetria  
Imunoensaio enzimático  
Electroforese em poliacrilamida  
Radioimunoensaio [22, 210]

Electroimunoensaio. Método primeiramente descrito por Laurell em 1965, consiste basicamente em misturar concentrações apropriadas de anticorpo com agarose. O antigénio aplica-se num dos extremos da placa e realiza-se a electroforese. Da migração do antigénio resulta a formação de linhas de precipitação no ponto de equivalência antigénio-anticorpo. Formam-se picos no "rocket", cuja área (e na maior parte dos casos a altura) é proporcional às quantidades de antigénio na amostra. Os resultados do doseamento são influenciados pelo local de especificidade antigénica do anticorpo.

O maior problema dos métodos imunoquímicos, para a quantificação das apoLps é o reconhecimento do antigénio determinante pelos diferentes anticorpos do soro policlonal. A extensão da reacção depende da conformação do local e da quantidade relativa de anticorpo para os vários tipos de locais presentes no antigénio. Uma solução hipotética para este problema de quantificação será o uso de uma mistura de anticorpos monoclonais, com locais antigénicos específicos conhecidos e bem definidos.

Adicionalmente, os resultados podem ser influenciados pelo estado físico do antigénio, como tamanho e polidispersidade das Lp ou apoLp e a associação entre elas. Daqui resulta que uma partícula lipoproteica isolada, do plasma total, do plasma deslipidado ou do plasma tratado com detergente pode ter diferentes locais antigénicos disponíveis para a reacção antigénio-anticorpo [206]. Estas variações entre as reacções antigénio-anticorpo podem explicar as diferenças de concentração obtidas para as apoLp por diferentes métodos.

Esforços para a padronização da determinação da concentração das apolipoproteínas por imunoensaio terão que ter em conta não só as metodologias, mas também a selecção conveniente dos reagentes e o seu ensaio prévio [207]. Um dos requisitos indispensáveis para a quantificação das apolipoproteínas é o conhecimento da especificidade dos anticorpos [208], para o que muito contribuíram as técnicas de "immunoblotting", técnica que estabelece a especificidade do anticorpo em relação às Lps e apoLps [206]. A preparação de antissoros reprodutivos é um dos passos mais difíceis no doseamento de apoLps por electroimunoensaio [209].

Embora o número de variáveis experimentais seja maior nos métodos imunoquímicos do que nos outros métodos quantitativos, a especificidade obtida supera esses inconvenientes (até este momento não existe nenhum método de referência para dosear apoLps). Os imunoensaios têm maior coeficiente de variação do que os outros métodos: as variações intra-ensaio são aproximadamente de 5% e as variações inter-ensaio variam entre 10 e 15%, resultando essas variações da variabilidade do anticorpo, dos vários passos do ensaio e das diferentes diluições. O método escolhido deverá tratar as amostras de forma a que estas e o padrão estejam num estado físico que ofereça equivalente competição imunoquímica para o anticorpo [210].

As vantagens do método de electroimunoensaio é que permitem uma visualização rápida se as linhas de precipitação são correctas ou não. É um método relativamente simples, não necessitando de equipamento demasiado caro, podendo por isso ser usado em laboratórios pequenos. Fornece resultados correlacionados com os outros métodos. Tem como desvantagem ser demorado, cerca de 10 horas,

(no entanto, é mais rápido que o método de radioimunoanálise, que necessita de, pelo menos, três dias [211]), requer grandes quantidades de antissoro, não podendo ser automatizado [206].

Como as opiniões sobre a conservação das amostras são divergentes, [212, 213, 214, 215], será para já preferível trabalhar com soro fresco, conservado a 4°C, no máximo durante uma semana. Todos os cuidados pré-analíticos referidos para o doseamento das Lps são válidos para o doseamento das apoLps. As diluições das amostras e dos padrões terão que ser rigorosas.

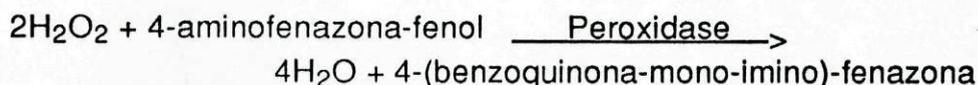
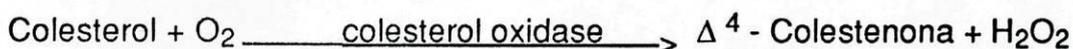
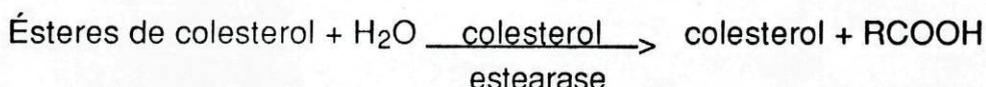
Devem usar-se antissoros em que se tenha verificado que não reagem com apoLps diferentes da que estamos a dosear, normalmente por "rocket" de electroimunoensaio. A afinidade do antissoro é normalmente verificada por radioimunoensaio ou por métodos imunoenzimáticos. Deverão usar-se soros controlo apropriados e, evidentemente que nenhum resultado deverá sair se os respectivos valores não estiverem dentro dos limites de controlo.

### Determinações efectuadas neste estudo:

#### Determinação do colesterol

Sobre soro, conservado a 4°C, dentro dum prazo de 6 dias, após colheita, determinou-se a concentração de colesterol total, usando-se o método colorimétrico enzimático CHOD-PAP da Boehringer Mannheim (nº. de ref. 236691).

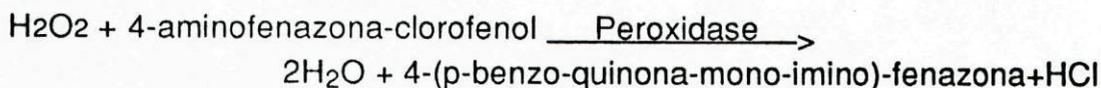
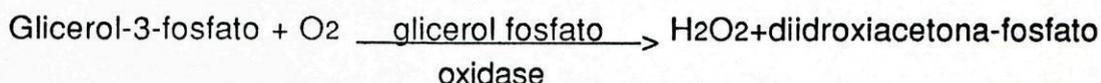
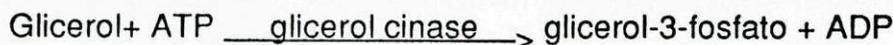
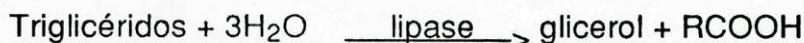
Fundamento:



#### Determinação dos triglicéridos

Usa -se soro conservado a 4°C, durante o período de 4 dias após colheita, utilizando o método colorimétrico enzimático para triglicéridos GPO-PAP da Boehringer Mannheim (nº. de ref.701912).

Fundamento:



Congelou-se e guardou-se uma alíquota das amostras para posterior confirmação dos resultados, se necessário.

Para o doseamento do HDLc, LDLc e VLDLc usou-se o método recomendado pela Lipid Reseach Clinic, U.S.A.

Quando necessário, o soro foi congelado a  $-20^{\circ}\text{C}$ , já nos respectivos tubos de centrifugação, até ao momento de ser usado.

Fundamento:

As lipoproteínas podem ser precipitadas selectivamente por adição ao soro, numa solução com polissacarídeos sulfatados, adicionados de cationes bivalentes. Num tubo termoplástico de centrifugação colocamos 5ml de soro, enchemos totalmente o tubo com soro fisiológico, após o que o selamos com cápsulas apropriadas, centrifugamos a 39.000 r.p.m., a  $4^{\circ}\text{C}$  durante 18 horas. No fim obtiveram-se 2 fracções, a superior que contém o VLDLc e a inferior que contém uma mistura de HDLc e LDLc. Numa alíquota da inferior, o LDLc é precipitado pela adição de cloreto de manganês e heparina, ficando o HDL em solução. Ver (Fig. 55).

$$\text{VLDLc} = \text{CT} - [\text{LDLc} + \text{HDLc}]$$
$$\text{LDLc} = [\text{LDLc} + \text{HDLc}] - \text{HDLc}$$

Reagentes:

- 1- Soro fisiológico
- 2- Reagente de precipitação:
  - a) 9.56g  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  dissolvidos em 6 ml de água destilada
  - b) 1.05g de heparina ( $5 \times 10^5$  unidades/frasco) dissolvidos em 12,5ml de soro fisiológico.Misturar o reagente a com b num balão volumétrico de 25ml e completar o volume com água destilada.
- 3- Para dosear o HDLc e o colesterol existente nas fracções superiores e inferiores, usamos a mesma técnica que para a determinação do colesterol total.
- 4- Soros controlo: Precilip L e Biotrol 33 Plus.

#### Doseamento da apoLp A-I e B por imunoelectroforese.

Fundamento:

É uma técnica baseada no método de Laurel e resumidamente consiste em misturar concentrações apropriadas de anticorpo com agarose. O antigénio é aplicado numa das extremidades da placa que contém agarose com o respectivo anticorpo. Realizar a electroforese. Da migração do antigénio resulta a formação de linhas de precipitação no ponto de equivalência antigénio-anticorpo. Aparecem picos no "rocket" cuja área e na maior parte dos casos a altura é proporcional à concentração do antigénio na amostra.

Reagentes:

- 1- Tampão barbital 0.1M, pH 8,6
- 2- Tampão barbital 0,05M, pH 8,6
- 3- Agarose "Stock" 2%

Dissolver 10 g de agarose (standart Low-mr-Bio Rad. Electrophoresis purity reagent nº.162-0100) em 500 ml de água destilada.

4- Agarose para uso a 1%

O volume necessário de agarose por placa foi calculado pela fórmula:

Base x altura x espessura (0,15 cm) = volume (ml)

5- Corante: 0.1% de Naftal Blue Black nº 9002 da Sigma, em 7,5% de ácido acético.

6- Soluções de lavagem:

a) Solução de NaCl a 5%

b) Solução de ácido acético a 7,5%

7- Soro padrão de apolipoproteína humana apo A-I e apo B da Immuno, ref.491005.

Diluição usada para traçar a curva padrão:

a) Para a apolipoproteína A-I: 1/15; 1/17,5; 1/20; 1/25.

b) Para a apolipoproteína B: 1/5; 1/10; 1/20; 1/30;

8- Soro controlo de apolipoproteínas humanas, apo A-I e apo B, da Immuno, ref.497705. Usamos o soro controlo diluído a 1/20.

9- Anticorpo:

a) Anti-h-Apolipoproteína A- Anteserum ref. nº.1001388 da Boheringer, que se usou numa diluição de 2,3%.

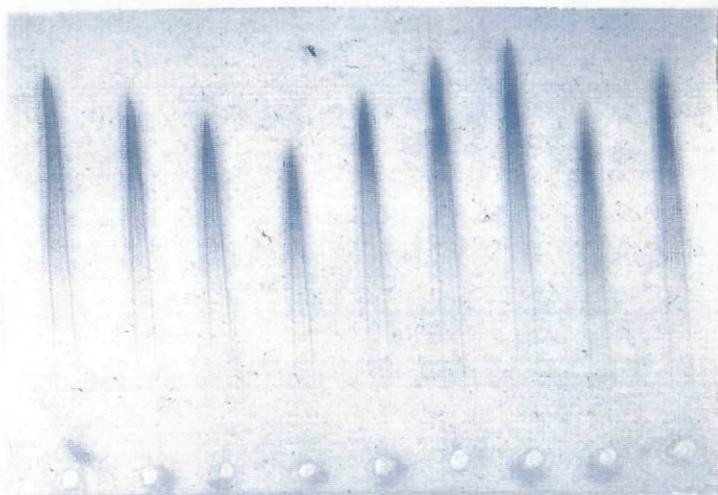
b) Anti-h-Apolipoproteína B- Anteserum, ref. nº.1001400 da Boheringer, que se usou numa diluição de 0,46%.

10- As amostras para o doseamento da apolipoproteína A-I foram diluídas a 1/25 e para o doseamento da apolipoproteína B a 1/20.

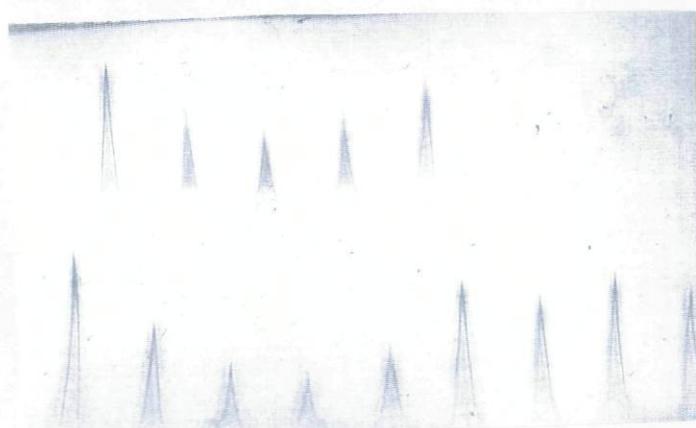
Técnica:

Uma vez a agarose pronta nas placas, com o respectivo anticorpo, aplicar as amostras. Deixar correr a electroforese durante 4 horas, a 350 volt. Ao fim deste tempo retirar as placas, lavar com NaCl a 5%, durante uma hora, para retirar o excesso de anticorpo. Cobrir com papel de filtro Whatman Nº.1, e deixar secar. Corar durante 10 minutos, retirar o excesso de corante com ácido acético a 7,5%. Fazer os cálculos.

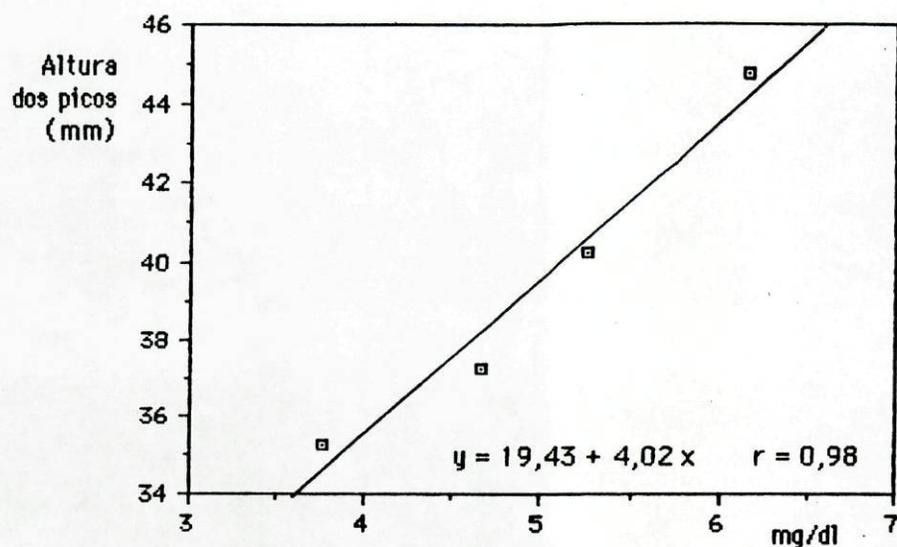
Apresentam-se a seguir os exemplos de placas de doseamento da apolipoproteína A-I (Fig.61) e apolipoproteína B (Fig.62) assim como as respectivas curvas padrão obtidas (Fig.63 e 64).



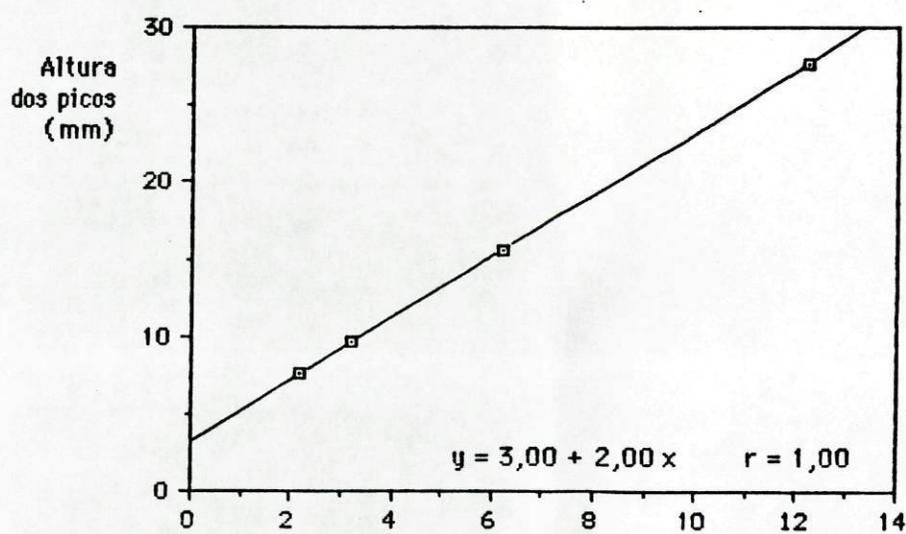
**Figura 61.** Placa de doseamento de apo A-I por imuno-electroforese. As concentrações são proporcionais à altura dos picos. Da esquerda para a direita podem ver-se: quatro picos de padrões, um soro de controlo e quatro soros de pacientes.



**Figura 62.** Placa de doseamento de apo B por imuno-electroforese. As concentrações são proporcionais à altura dos picos. A menor altura dos picos relativamente aos da apo A-I (ver Fig. 61) permite maior aproveitamento da placa. Na fila inferior e da esquerda para a direita podem ver-se: quatro picos de padrões, um soro de controlo e quatro soros de pacientes. Na fila de cima os picos são de mais cinco soros.



**Figura 63.** Relação entre a altura dos picos de electroforese de soluções padrão de apolipoproteína A-I e a concentração dessas soluções.



**Figura 64.** Relação entre a altura dos picos de electroforese de soluções padrão de apolipoproteína B e a concentração dessas soluções.

## 14 - Análise dos Resultados

Sobre uma amostra da população, de sexo masculino e feminino, da qual se tentou saber a idade, peso, altura, pressão sistólica e diastólica, hábitos de tabagismo, ingestão de café e álcool, com um jejum prévio de 12-14 horas, usando soro, eliminando as amostras de indivíduos diabéticos, doentes da tiróide e doentes renais, realizaram-se as determinações das concentrações de:

Colesterol total, triglicéridos, HDLc, LDLc e VLDLc (ultracentrifugação).  
HDLc, LDLc e VLDLc (electroforese).  
Apolipoproteína A-I e Apolipoproteína B (electroimunoensaio).

A população estudada foi dividida em 3 grupos:

- População masculina normal.
- População masculina sobrevivente de EM e/ou com angiografia positiva.
- População feminina normal.

Estabeleceram-se também três grupos etários: de 30 a 49 anos, de 50 a 59 anos e com idade superior a 60 anos.

Nos Quadros 21, 22 e 23 apresentam-se os resultados obtidos para a população masculina normal, para a população masculina sobrevivente de EM e /ou com angiografia positiva e para a população feminina normal.

Pode-se verificar que o efeito da idade se faz sentir numa forma muito mais evidente na população feminina para as concentrações de CT, TG, VLDLc, LDLc, Apo A-I, apo B, do que na população masculina normal.

No Quadro 23 (população feminina), pode-se também constatar que os valores de CT aumentam com a idade, o que se deve a um aumento das concentrações de LDLc (evidenciado no doseamento quer por ultracentrifugação, quer por electroforese) e das concentrações de apo A-I.

No Quadro 24 compara-se as diferentes concentrações obtidas entre os diferentes grupos etários, da amostragem masculina normal estudada; pode-se verificar que só os valores de referência do CT e do LDLc é que precisam de ser subdivididos em diferentes grupos etários, visto que existem diferenças significativas, ( $p < 0,05$ ) nas concentrações de colesterol entre o grupo etário com idades de 30-49 anos, e idade igual ou superior a 60 anos, assim como entre este grupo e os indivíduos com idades entre os 50-59 anos.

Para as concentrações de LDLc, encontramos diferenças significativas entre os grupos com idades de 50-59 anos e idades igual ou superior a 60 anos. Parece, em função dos dados obtidos, que as diferenças de idades nos indivíduos masculinos normais da população estudada só influenciam significativamente os valores de CT e LDLc. Podem considerar-se as determinações obtidas, para as concentrações dos TG, VLDLc, HDLc, Apo A-I e Apo B em toda a amostra considerada, como valores de referência, não sendo necessário subdivisões por grupos etários.

No Quadro 25 comparam-se as diferentes concentrações obtidas entre os diferentes grupos etários da amostragem masculina sobrevivente de EM e ou com angiografia positiva. Só se obteve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nas concentrações

Idades	Casos	Ultracentrifugação							Electroforese		
		CT	TG	VLDLc	LDLc	HDLc	apo A-I	apo B	VLDLc	LDLc	HDLc
30-49	50	225±42	152±77	37±21	140±42	49±12	136±23	123±36	17±7	162±38	45±13
50-59	27	220±34	181±84	43±29	129±34	50±10	138±8	111±25	22±11	159±36	42±9
≥60	11	261±46	145±91	39±23	168±46	55±16	144±24	133±35	21±10	193±38	46±12
Total	88	228±42	160±81	38±24	140±41	50±12	138±21	121±33	19±9	165±38	44±12

**Quadro 21.** Valores médios em mg/dl e respectivos desvios padrão de componentes séricos em toda a população masculina normal estudada e a mesma amostra dividida em três grupos etários: dos 30 aos 49 anos, dos 50 aos 59 anos e com idade igual ou superior aos 60 anos. Representam-se os valores das concentrações de colesterol total (CT), triglicéridos (TG), colesterol de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDLc), colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDLc) e colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDLc), obtidos por ultracentrifugação diferencial; de apolipoproteína A-I (apo A-I) e apolipoproteína B (apo B); de VLDLc, LDLc e HDLc por electroforese.

Idades	Casos	Ultracentrifugação							Electroforese		
		CT	TG	VLDLc	LDLc	HDLc	apo A-I	apo B	VLDLc	LDLc	HDLc
30-49	11	216±79	157±71	42±27	141±69	36±13	113±23	114±42	22±12	161±69	37±59
50-59	17	223±58	195±101	44±24	138±36	41±11	124±27	139±44	25±14	154±55	44±16
≥60	10	201±65	174±96	38±32	129±53	35±7	99±30	115±60	26±22	148±51	29±14
Total	38	215±65	178±91	42±27	136±51	38±11	114±28	125±48	24±16	154±57	38±15

**Quadro 22.** Valores médios em mg/dl e respectivos desvios padrão de componentes séricos em toda a população masculina de sobreviventes de enfarte de miocárdio e ou com angiografia positiva, e a mesma amostra dividida em três grupos etários: dos 30 aos 49 anos, dos 50 aos 59 anos e com idade igual ou superior aos 60 anos. Representam-se os valores das concentrações de colesterol total (CT), triglicéridos (TG), colesterol de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDLc), colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDLc) e colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDLc), obtidos por ultracentrifugação diferencial; de apolipoproteína A-I (apo A-I) e apolipoproteína B (apo B); de VLDLc, LDLc e HDLc por electroforese.

Idades	Casos	Ultracentrifugação							Electroforese		
		CT	TG	VLDLc	LDLc	HDLc	apo A-I	apo B	VLDLc	LDLc	HDLc
30-49	49	188±34	87±38	24±13	107±28	56±15	133±19	95±35	14±9	128±32	47±10
50-59	15	226±54	127±52	31±21	145±51	55±9	139±19	115±45	16±6	164±45	47±8
≥60	8	258±58	145±71	36±19	177±40	49±11	142±19	123±29	15±5	192±59	50±14
Total	72	203±48	102±50	27±16	123±43	55±14	135±19	102±38	15±8	143±44	47±10

**Quadro 23.** Valores médios em mg/dl e respectivos desvios padrão de componentes séricos em toda a população feminina normal estudada e a mesma amostra dividida em três grupos etários: dos 30 aos 49 anos, dos 50 aos 59 anos e com idade igual ou superior aos 60 anos. Representam-se os valores das concentrações de colesterol total (CT), triglicerídeos (TG), colesterol de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDLc), colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDLc) e colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDLc), obtidos por ultracentrifugação diferencial; de apolipoproteína A-I (apo A-I) e apolipoproteína B (apo B); de VLDLc, LDLc e HDLc por electroforese.

Idades	Casos	CT	TG	VLDLc	LDLc	HDLc	apo A-I	apo B
30-49	50	225±42	152±77	37±21	140±42	49±12	136±23	123±36
50-59	27	220±34	181±84	43±29	129±34	50±10	138±18	111±25
p		0,62	0,14	0,39	0,24	0,68	0,72	0,11
30-49	50	225±42	152±77	37±21	140±42	49±12	136±23	123±36
≥60	11	261±46	145±91	39±23	168±46	55±16	144±24	133±35
p		0,032	0,82	0,89	0,081	0,26	0,33	0,39
50-59	27	220±34	181±84	43±29	129±34	50±10	138±18	111±25
≥60	11	261±46	145±91	39±23	168±46	55±16	144±24	133±35
p		0,019	0,28	0,63	0,024	0,35	0,45	0,079

**Quadro 24.** Comparação entre grupos etários dos valores médios em mg/dl de componentes séricos na população masculina normal. Representam-se os valores de p para as diferenças das concentrações de colesterol total (CT), triglicerídeos (TG), colesterol de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDLc), colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDLc) e colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDLc), obtidos por ultracentrifugação diferencial, e de apolipoproteína A-I (apo A-I) e apolipoproteína B (apo B).

de apo A-I entre o grupo etário com idade entre 50 a 59 anos e o grupo com idade igual ou superior a 60 anos.

No estudo comparativo entre os diferentes grupos etários da população feminina normal estudada (Quadro 26), observam-se diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) nas concentrações de colesterol entre o grupo etário de 30-49 anos e o grupo etário de 50-59 anos, assim como entre o grupo etário de 30-49 anos e idade superior ou igual a 60 anos. Verificam-se também diferenças significativas nas concentrações dos TG entre o grupo etário 30-49 e o de 50-59 anos. No LDLc só não se verificam diferenças significativas entre as concentrações do grupo etário dos 50-59 e o de idade igual ou superior a 60 anos. Nas concentrações de apo B verifica-se uma diferença significativa entre o grupo etário dos 50-59 anos e o grupo de idade igual ou superior a 60 anos; evidentemente que este grupo apresenta também diferença significativa em relação aos valores encontrados para o grupo com idades entre os 30-49 anos.

No Quadro 27 apresentam-se os resultados obtidos nas determinações das concentrações de CT, TG, VLDLc, LDLc, HDLc, Apo A-I, apo B e da razão HDLc/LDLc (mg/dl), determinadas na população masculina normal e na constituída por sobreviventes de enfarte de miocárdio e/ou com angiografia positiva (que passam a ser designadas por anormais), para os três grupos etários estudados. Observa-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os indivíduos normais e anormais nas concentrações de CT, com idade igual ou superior a 60 anos.

Também se observam diferenças significativas entre as concentrações obtidas para as apo B, entre os indivíduos normais e anormais com idades entre 50-59 anos. Verifica-se ainda, diferença significativa, neste mesmo grupo para as razões das concentrações de HDLc/LDLc, o que leva a sugerir a continuação do estudo das diferenças encontradas nesta razão, entre indivíduos normais e anormais, a fim de confirmar o interesse da sua determinação com o fim de fornecer mais um dado adicional para ajuda de diagnóstico.

Porém, a conclusão mais importante dos resultados referidos neste quadro é verificar-se diferença significativa, em todos os grupos etários, nas concentrações de HDLc e apolipoproteína A-I, o que sugere que estas determinações são as que melhor diferenciam os indivíduos de "baixo risco" dos de "alto risco", tornando-se a sua quantificação indispensável no diagnóstico para a população masculina, na região do Porto e arredores.

No Quadro 28 comparam-se as concentrações dos lípidos séricos da população masculina e feminina normal. Verifica-se que no grupo etário dos 30-49 anos, as mulheres apresentam concentrações significativamente inferiores ( $p < 0,05$ ) aos dos homens nas concentrações de CT, TG, VLDLc, LDLc, HDLc, Apo B e na razão das concentrações de HDLc/LDLc. Neste grupo etário as mulheres possuem um risco de serem atingidas por DCV de um para cinquenta, em relação aos homens do mesmo grupo. Assinalam-se as diferenças entre as médias determinadas, para o sexo masculino e feminino, para os diferentes grupos etários, das determinações realizadas. Observa-se a diminuição dessas diferenças com o avançar dos anos. Confirma-se o efeito protector dos estrogénios nas mulheres entre os 30-49 anos, efeito que diminui entre os 50-59 anos, desaparecendo a partir dos 60. Sendo, por isso, aconselhável compensação hormonal para as mulheres pós-menopausa.

Nos Quadros 29, 30 e 31, comparam-se os valores de VLDLc, LDLc e HDLc obtidos por ultracentrifugação com os mesmos valores obtidos por electroforese. Verifica-se que entre 15 a 30 mg/dl das concentrações de VLDLc obtidas pelo método

Idades	Casos	CT	TG	VLDLc	LDLc	HDLc	apo A-I	apo B
30-49	11	216±79	157± 71	42±27	141±69	36±13	113±23	114±42
50-59	17	223±58	195±101	44±24	138±36	41±11	124±27	139±44
p		0,80	0,26	0,87	0,92	0,37	0,28	0,15
30-49	11	216±79	157±71	42±27	141±69	36±13	113±23	114±42
≥60	10	201±65	174±96	38±32	129±53	35± 7	99±30	115±60
p		0,64	0,64	0,75	0,66	0,72	0,24	0,98
50-59	17	223±58	195±101	44±24	138±36	41±11	124±27	139±44
≥60	10	201±65	174± 96	38±32	129±53	35± 7	99±30	115±60
p		0,38	0,61	0,63	0,62	0,095	0,044	0,29

**Quadro 25.** Comparação entre grupos etários dos valores médios em mg/dl de componentes séricos na população masculina de sobreviventes de enfarte de miocárdio e ou com com angiografia positiva. Representam-se os valores de p para as diferenças das concentrações de colesterol total (CT), trigliceridos (TG), colesterol de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDLc), colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDLc) e colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDLc), obtidos por ultracentrifugação diferencial, e de apolipoproteína A-I (apo A-I) e apolipoproteína B (apo B).

Idades	Casos	CT	TG	VLDLc	LDLc	HDLc	apo A-I	apo B
30-49	49	188±34	87±38	24±13	107±28	56±15	133±19	95±35
50-59	15	226±54	127±52	31±21	145±51	55±9	139±19	115±45
p		0,019	0,013	0,23	0,015	0,68	0,30	0,13
30-49	49	188±34	87±38	24±13	107±28	56±15	133±19	95±35
≥60	8	258±58	145±71	36±19	177±40	49±11	142±19	123±29
p		0,013	0,058	0,12	<0,001	0,16	0,23	0,032
50-59	15	226±54	127±52	31±21	145±51	55±9	139±19	115±45
≥60	8	258±58	145±71	36±19	177±40	49±11	142±19	123±29
p		0,23	0,55	0,57	0,11	0,27	0,67	<0,001

**Quadro 26.** Comparação entre grupos etários dos valores médios em mg/dl de componentes séricos na população feminina normal. Representam-se os valores de p para as diferenças das concentrações de colesterol total (CT), trigliceridos (TG), colesterol de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDLc), colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDLc) e colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDLc), obtidos por ultracentrifugação diferencial, e de apolipoproteína A-I (apo A-I) e apolipoproteína B (apo B).

Idades	Casos	CT	TG	VLDLc	LDLc	HDLc	apo A-I	apo B	HDLc/LDLc
30-49	Normais 50	225±42	152±77	37±21	140±42	49±12	136±23	123±36	0,387±0,173
	D.C.U. 11	216±79	157±71	42±27	141±69	36±13	113±23	114±42	0,324±0,198
	p	0,72	0,84	0,59	0,96	0,013	0,010	0,53	0,34
50-59	Normais 27	220±34	181±84	43±29	129±34	50±10	138±18	114±25	0,423±0,174
	D.C.U. 17	223±58	195±101	44±24	138±36	41±11	124±27	139±44	0,303±0,081
	p	0,87	0,64	0,91	0,42	0,010	0,0074	0,030	0,0035
≥60	Normais 11	261±46	145±91	39±23	168±46	55±16	144±24	133±35	0,364±0,197
	D.C.U. 10	201±65	174±96	38±32	129±53	35±7	99±30	115±60	0,365±0,317
	p	0,028	0,48	0,97	0,085	0,0018	0,0015	0,41	1,0
Total	Normais 88	228±42	160±81	39±24	140±41	50±12	138±21	121±33	0,395±0,175
	D.C.U. 38	215±65	178±91	42±27	136±51	38±11	114±28	125±48	0,325±0,196
	p	0,26	0,29	0,61	0,70	<0,0001	<0,0001	0,60	0,062

**Quadro 27.** Comparação, para cada grupo etário, dos valores médios em mg/dl de componentes séricos entre a população masculina normal e sobreviventes de enfarte de miocárdio e ou com com angiografia positiva (doenças cardíco-vasculares ou D.C.U.). Representam-se os valores de p para as diferenças das concentrações de colesterol total (CT), trigliceridos (TG), colesterol de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDLc), colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDLc) e colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDLc), obtidos por ultracentrifugação diferencial, de apolipoproteína A-I (apo A-I) e apolipoproteína B (apo B), bem como da razão colesterol de lipoproteínas de alta densidade/colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (HDLc/LDLc).

Idades	Casos	CT	TG	VLDLc	LDLc	HDLc	apo A-I	apo B	HDLc/LDLc
30-49	Femin. 49	188±34	87±39	24±13	107±28	56±15	133±19	95±35	0,579±0,296
	Mascul. 50	225±43	152±77	37±21	140±42	49±12	136±23	123±36	0,387±0,173
	Masc.-Fem.	37	65	13	33	-7	3	28	-0,192
p		<0,001	<0,001	0,0002	<0,001	0,010	0,42	0,0002	0,0002
50-59	Femin. 15	226±54	127±52	31±22	145±51	55±9	139±19	115±45	0,435±0,187
	Mascul. 27	220±34	181±84	43±29	129±34	50±10	138±18	114±25	0,423±0,174
	Masc.-Fem.	-6	54	12	-16	-5	-1	-1	-0,012
p		0,72	0,014	0,13	0,31	0,13	0,90	0,76	0,84
≥60	Femin. 8	258±58	145±71	36±19	177±40	49±11	142±19	124±29	0,292±0,090
	Mascul. 11	261±46	145±91	39±23	168±46	55±16	144±24	133±35	0,364±0,197
	Masc.-Fem.	3	0	3	-9	6	2	9	0,072
p		0,89	0,99	0,79	0,66	0,38	0,85	0,52	0,30
Total	Femin. 72	203±48	102±50	27±16	123±43	55±14	135±19	102±38	0,516±0,277
	Mascul. 88	228±41	160±81	39±24	140±41	50±12	138±21	121±33	0,395±0,175
	Masc.-Fem.	25	58	12	17	-5	3	19	-0,121
p		0,0009	<0,0001	0,0001	0,012	0,015	0,40	0,0018	0,0018

**Quadro 28.** Comparação, para cada grupo etário, dos valores médios em mg/dl de componentes séricos entre a população masculina e a feminina normais. Representam-se as diferenças entre os valores para a população masculina e os da feminina, bem como os respectivos valores de p, para as concentrações de colesterol total (CT), triglicerídeos (TG), colesterol de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDLc), colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDLc) e colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDLc), obtidos por ultracentrifugação diferencial, de apolipoproteína A-I (apo A-I) e apolipoproteína B (apo B), bem como da razão colesterol de lipoproteínas de alta densidade/colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (HDLc/LDLc).

Método	Casos	Idades	VLDLc	LDLc	HDLc
Centrifugação	50	30-49	37±21	140±42	49±12
Electroforese	50	30-49	17±7	162±38	45±13
p			<0,0001	<0,0001	0,13
Centrifugação	27	50-59	43±29	129±34	50±10
Electroforese	27	50-59	22±11	159±36	42±9
p			0,012	0,0031	0,0035
Centrifugação	11	≥60	39±23	168±46	55±16
Electroforese	11	≥60	21±10	193±38	46±12
p			0,041	0,18	0,13

**Quadro 29.** Comparação entre os métodos de separação de componentes séricos em toda a população masculina normal estudada, por grupos etários; valores médios em mg/dl e respectivos desvios padrão. Representam-se os valores de p para as diferenças das concentrações de colesterol de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDLc), colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDLc) e colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDLc).

Método	Casos	Idades	VLDLc	LDLc	HDLc
Centrifugação	11	30-49	42±27	141±69	36±13
Electroforese	11	30-49	22±12	161±69	37±9
p			0,038	0,50	0,94
Centrifugação	17	50-59	44±24	138±36	41±11
Electroforese	17	50-59	25±14	154±55	44±16
p			0,010	0,33	0,53
Centrifugação	10	≥60	38±32	129±53	35±7
Electroforese	10	≥60	26±22	148±51	29±14
p			0,33	0,42	0,30

**Quadro 30.** Comparação entre os métodos de separação de componentes séricos em toda a população masculina de sobreviventes de enfarte de miocárdio e ou com com angiografia positiva, por grupos etários; valores médios em mg/dl e respectivos desvios padrão. Representam-se os valores de p para as diferenças das concentrações de colesterol de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDLc), colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDLc) e colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDLc).

Método	Casos	Idades	VLDLc	LDLc	HDLc
Centrifugação	49	30-49	24±13	107±28	56±15
Electroforese	49	30-49	14± 9	128±32	47±10
p			0,0001	0,0007	0,0005
Centrifugação	15	50-59	31±21	145±51	55±9
Electroforese	15	50-59	16± 6	164±45	47±8
p			0,023	0,27	0,026
Centrifugação	8	≥60	39±19	177±40	49±11
Electroforese	8	≥60	15± 5	192±59	50±14
p			0,019	0,56	0,91

**Quadro 31.** Comparação entre os métodos de separação de componentes séricos em toda a população feminina normal estudada, por grupos etários; valores médios em mg/dl e respectivos desvios padrão. Representam-se os valores de p para as diferenças das concentrações de colesterol de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDLc), colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDLc) e colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDLc).

da ultracentrifugação aparecem nas concentrações de LDLc obtidas por electroforese, podendo parte dessas VLDL ter mobilidade  $\beta$ . Donde se pode concluir que os resultados obtidos pelos dois métodos não são intraconvertíveis para as VLDLc e LDLc, devendo cada método ter os seus valores de referência e significado clínico próprio.

Quanto aos valores de HDLc, embora se verifique diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores obtidos pelos dois métodos, para os indivíduos normais masculinos com idades entre 50-59 anos e para as mulheres normais com idades entre 30-49 e 50-59 anos é de realçar que não se verifica diferença significativa nas concentrações de risco de HDLc observadas nos indivíduos masculinos com angiografia positiva e/ou sobreviventes de enfarte de miocárdio.

Determinaram-se as razões entre as concentrações de Apo B/CT, apo A-I/Apo B, CT/HDLc, e verificou-se (Quadro 32 e 33) que na população masculina normal e anormal não se verificam diferenças significativas ( $p < 0,005$ ) com o avançar da idade, não sendo necessário estabelecer valores de referência para os diferentes grupos etários. O mesmo se verifica para a razão das concentrações de Apo B/CT, nas mulheres normais estudadas (Quadro 34). Devem, porém, estabelecer-se valores de referência para as concentrações das razões de Apo A-I/ApoB e CT/HDLc, para a classe etária compreendida entre os 30-59 anos e para a classe etária com idade igual ou superior a 60 anos.

No Quadro 35 comparam-se as concentrações das razões apo B/TC, apo A-I/B e CT/HDLc entre indivíduos masculinos normais e anormais, nos diferentes grupos etários. Observaram-se diferenças significativas ( $t > 2$ ) no grupo etário de 50-59 anos, assim como entre toda a população normal e anormal, o que leva a sugerir a inclusão destas razões como dados adicionais de ajuda de diagnóstico. Os valores destas razões de referência serão diferentes entre o sexo masculino e o sexo feminino, uma vez que se verificam diferenças significativas ( $t > 2$ ) entre os dois sexos no grupo etário de 30-49 anos e em toda a população normal estudada (Quadro 36).

No Quadro 37 comparam-se as concentrações de CT, TG, VLDLc, LDLc, HDLc, Apo A-I, Apo B, as razões das concentrações de HDLc/LDLc, CT/HDLc, Apo A-I/Apo B e Apo B/CT, determinadas em 24 casais. Estes resultados estão de acordo com os defensores da corrente que afirma que as concentrações lipídicas do sangue são mais fortemente influenciadas pelos factores genéticos do que pelos factores do meio ambiente, visto que em princípio os factores ambientais exercem a mesma influência sobre o casal.

No Quadro 38 apresenta-se para a população masculina normal a correlação entre as concentrações de CT, TG, LDLc, HDLc, apo A-I e apo B com a idade.

- Correlação das razões VLDLc/TG, Apo B/LDLc, Apo A-I/HDLc, HDLc/LDLc, HDLc/CT e HDLc/TG com a idade.

- Correlação da concentração de CT, TG, LDLc, HDLc, apo A-I e apo B e o número de cigarros fumados por dia.

- Correlação entre as concentrações de CT, TG, VLDLc, LDLc, HDLc, apo A-I e apo B (mg/dl) com o número de chávénas de café ingeridos diariamente.

#### Verificamos:

- Correlação positiva entre as concentrações de CT (mg/dl) e a idade, com um coeficiente de correlação igual a 0,212 (Fig.65).

- Correlação positiva entre as concentrações de apo B (mg/dl) e a ingestão de café (Fig.66) com um coeficiente de correlação igual a 0,265.

Idades	Casos	B/CT	A-I/B	CT/HDLc
30-49	50	0,55±0,13	1,20±0,40	4,84±1,45
50-59	27	0,51±0,10	1,30±0,36	4,60±1,23
p		0,19	0,29	0,46
30-49	10	0,55±0,13	1,20±0,40	4,84±1,45
≥60	11	0,51±0,12	1,14±0,31	5,23±2,02
p		0,44	0,63	0,46
50-59	27	0,51±0,10	1,30±0,36	4,60±1,23
≥60	11	0,51±0,12	1,14±0,31	5,23±2,02
p		0,90	0,2	0,24

**Quadro 32.** Comparação, entre os grupos etários da população masculina normal estudada, das razões dos seguintes pares de valores médios em mg/dl de componentes séricos: apolipoproteína B/colesterol total (B/CT), apolipoproteína A-I/apolipoproteína B (A-I/B) e colesterol total/colesterol de lipoproteínas de alta densidade (CT/HDLc). Representam-se os valores de p para as diferenças das razões referidas.

Idades	Casos	B/CT	A-I/B	CT/HDLc
30-49	11	0,54±0,14	1,10±0,4	5,67±1,92
50-59	17	0,63±0,17	0,96±0,3	5,58±1,04
p		0,16	0,30	0,89
30-49	11	0,54±0,14	1,10±0,4	5,67±1,92
≥60	10	0,57±0,18	0,94±0,33	5,90±1,95
p		0,63	0,35	0,80
50-59	17	0,63±0,17	0,96±0,30	5,58±1,04
≥60	10	0,57±0,18	0,94±0,33	5,90±1,95
p		0,42	0,89	0,64

**Quadro 33.** Comparação, entre os grupos etários da população masculina de sobreviventes de enfarte de miocárdio e ou com angiografia positiva, das razões dos seguintes pares de valores médios em mg/dl de componentes séricos: apolipoproteína B/colesterol total (B/CT), apolipoproteína A-I/apolipoproteína B (A-I/B) e colesterol total/colesterol de lipoproteínas de alta densidade (CT/HDLc). Representam-se os valores de p para as diferenças das razões referidas.

Idades	Casos	B/CT	A-I/B	CT/HDLc
30-49	49	0,49±0,13	1,60±0,67	3,57±1,41
50-59	15	0,53±0,16	1,32±0,49	4,39±1,51
p		0,43	0,068	0,068
30-49	49	0,49±0,13	1,6±0,67	3,57±1,41
≥60	8	0,49±0,10	1,21±0,33	5,45±1,76
p		0,85	0,014	0,021
50-59	15	0,53±0,16	1,32±0,49	4,39±1,51
≥60	8	0,49±0,10	1,21±0,33	5,45±1,76
p		0,42	0,52	0,17

**Quadro 34.** Comparação, entre os grupos etários da população feminina normal estudada, das razões dos seguintes pares de valores médios em mg/dl de componentes séricos: apolipoproteína B/colesterol total (B/CT), apolipoproteína A-I/apolipoproteína B (A-I/B) e colesterol total/colesterol de lipoproteínas de alta densidade (CT/HDLc). Representam-se os valores de p para as diferenças das razões referidas.

Idades	Casos	B/CT	A-I/B	CT/HDLc	
30-49	Normal	50	0,55±0,13	1,20±0,40	4,85±1,45
	D.C.U.	11	0,54±0,14	1,10±0,40	5,67±1,92
	t		0,25	0,76	1,6
50-59	Normal	27	0,51±0,10	1,30±0,36	4,60±1,23
	D.C.U.	17	0,63±0,17	0,96±0,30	5,58±1,04
	t		3,0	3,8	2,7
≥60	Normal	11	0,51±0,12	1,14±0,31	5,23±2,02
	D.C.U.	10	0,57±0,18	0,94±0,33	5,90±1,95
	t		0,91	1,43	0,76
Total	Normal	88	0,53±0,12	1,22±0,39	4,80±1,5
	D.C.U.	38	0,59±0,17	0,99±0,33	5,69±1,53
	t		2,3	3,3	3,1

**Quadro 35.** Comparação, para cada grupo etário, e entre a população masculina normal e sobreviventes de enfarte de miocárdio e ou com com angiografia positiva, das razões dos seguintes pares de valores médios em mg/dl de componentes séricos: apolipoproteína B/colesterol total (B/CT), apolipoproteína A-I/apolipoproteína B (A-I/B) e colesterol total/colesterol de lipoproteínas de alta densidade (CT/HDLc). Representam-se os valores de t para as diferenças das razões referidas.

Idades	Casos	B/CT	A-I/B	CT/HDLc
30-49	Femin. 49	0,49±0,13	1,60±0,67	3,57±1,41
	Mascul. 50	0,55±0,13	1,20±0,40	4,84±1,45
t		2,30	3,60	4,40
50-59	Femin. 15	0,53±0,16	1,32±0,49	4,39±1,51
	Mascul. 27	0,51±0,10	1,30±0,36	4,60±1,23
t		0,53	0,15	0,50
≥60	Femin. 8	0,49±0,10	1,21±0,33	5,45±1,76
	Mascul. 11	0,51±0,12	0,14±0,31	5,23±2,02
t		0,40	0,46	0,25
Total	Femin. 72	0,50±0,13	1,50±0,62	3,97±1,58
	Mascul. 88	0,53±0,12	1,22±0,39	4,80±1,50
t		1,50	3,50	3,30

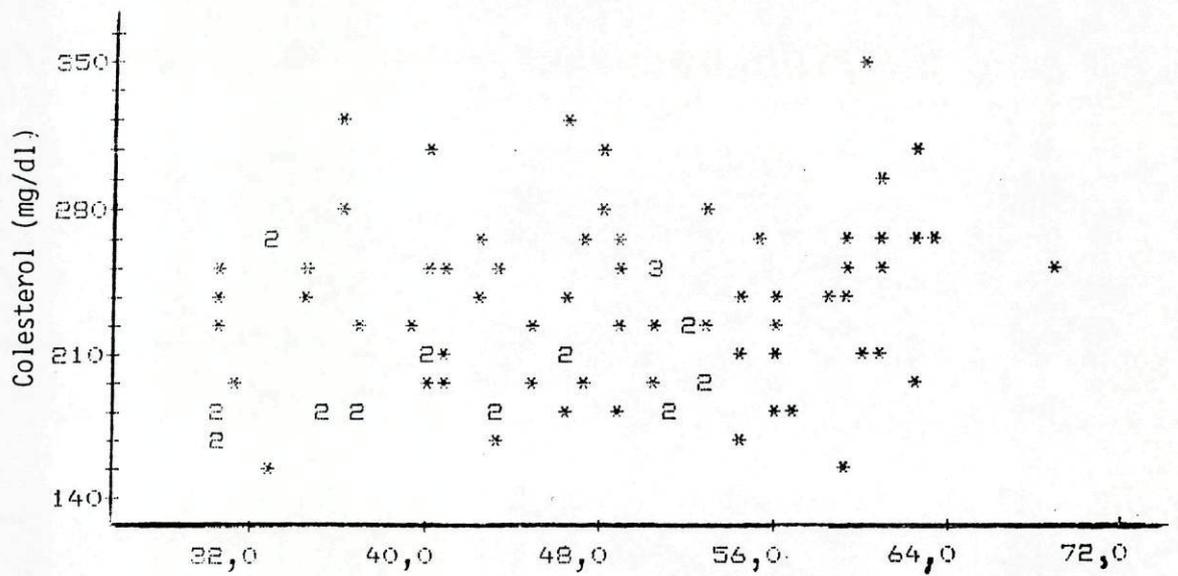
**Quadro 36.** Comparação, para cada grupo etário, e entre a populações feminina e masculina normais, das razões dos seguintes pares de valores médios em mg/dl de componentes séricos: apolipoproteína B/colesterol total (B/CT), apolipoproteína A-I/apolipoproteína B (A-I/B) e colesterol total/colesterol de lipoproteínas de alta densidade (CT/HDLc). Representam-se os valores de t para as diferenças das razões referidas.

Sexo	CT	TG	VLDLc	LDLc	HDLc	apo A-I	apo B	HDLc/LDLc	CT/HDLc	A-I/B	B/CT
Mascul.	227±39	154±66	40±27	144±39	47±10	141±18	125±31	0,36±0,16	5,1±1,6	1,93±0,3	0,55±0,10
Femin.	193±35	82±30	23±14	113±33	59±16	133±18	86±26	0,58±0,30	3,7±1,8	1,73±0,7	0,44±0,10
p	0,003	<0,001	0,012	0,0049	0,004	0,13	<0,001	0,003	0,004	0,0016	0,0005

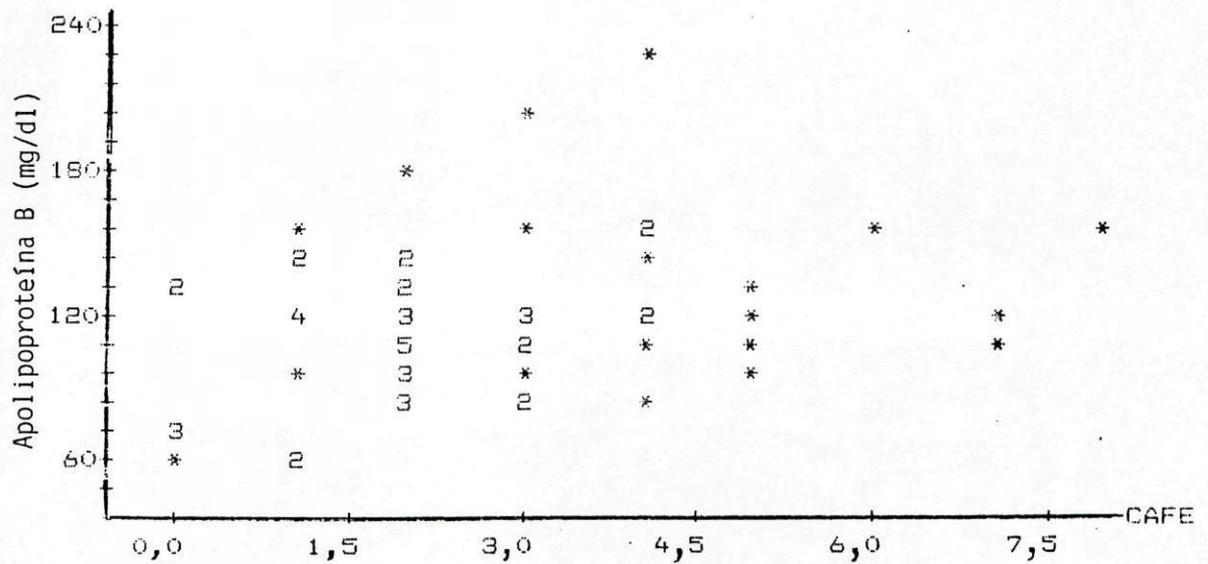
**Quadro 37.** Comparação de parâmetros em 24 pares de peessoas casadas normais. Apresentam-se valores médios de componentes séricos em mg/dl, algumas razões de componentes e respectivos desvios padrão. Valores: concentrações de colesterol total (CT), triglicéridos (TG), colesterol de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDLc), colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDLc) e colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDLc), obtidos por ultracentrifugação diferencial; de apolipoproteína A-I (apo A-I) e apolipoproteína B (apo B); razões: colesterol de lipoproteínas de alta densidade/colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (HDLc/LDLc), colesterol total/colesterol de lipoproteínas de alta densidade (CT/HDLc), apolipoproteína A-I/apolipoproteína B (A-I/B) e apolipoproteína B/colesterol total (B/CT). Representam-se os valores de p para as diferenças das razões referidas.

Parâmetros	Idade	Tabaco	Café
Colesterol total	0,212	0,254	0,213
Triglicéridos	0,132	0,009	0,243
LDLc	0,112	0,264	0,173
HDLc	0,056	-0,022	0,012
VLDLc			0,160
Apo A-I	0,085	-0,029	0,062
Apo B	0,027	0,128	0,265
VLDLc/TG	0,046		
Apo B/LDLc	-0,058		
Apo A-I/HDLc	-0,022		
HDLc/LDLc	-0,051		
HDLc/CT	-0,071		
HDLc/TG	-0,0006		

**Quadro 38.** Coeficientes de correlação para a população masculina normal entre parâmetros lipídicos e a idade e os consumos de tabaco e café.



**Figura 65.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de colesterol total e a idade na população masculina normal estudada. Coeficiente de correlação igual a 0,212.



**Figura 66.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de apolipoproteína B e a ingestão de café na população masculina normal estudada. Coeficiente de correlação igual a 0,265.

No Quadro 39 apresentam-se correlações, para os indivíduos masculinos sobreviventes de enfarte de miocárdio e/ou com angiografia positiva, entre as concentrações de CT, TG, LDLc, HDLc, apo A-I e apo B e as razões VLDLc/TG, Apo B/LDLc, Apo A-I/HDLc, HDLc/LDLc, HDLc/CT, HDLc/TG, com a idade, consumo de tabaco e consumo de café.

Verificamos:

- Correlação negativa entre as concentrações de CT e a ingestão de café (Fig. 80), com um coeficiente de correlação igual a  $-0,692$ .
- Correlação negativa entre as concentrações de LDLc e a ingestão de café (Fig. 86), com um coeficiente de correlação igual a  $-0,677$ .
- Correlação negativa entre as concentrações de apo B e a ingestão de café (Fig. 83), com um coeficiente de correlação igual a  $0,808$ .

No Quadro 40 apresentam-se correlações, para a população feminina, entre as concentrações de CT, TG, LDLc, HDLc, apo A-I e apo B e as razões VLDLc/TG, Apo B/LDLc, Apo A-I/HDLc, HDLc/LDLc, HDLc/CT, HDLc/TG, com a idade, consumo de tabaco e consumo de café.

Verificamos:

- Correlação positiva entre as concentrações de CT e a idade (Fig. 67) com um coeficiente de correlação igual a  $0,476$ .
- Correlação positiva entre as concentrações de TG e a idade (Fig. 68) com um coeficiente de correlação igual a  $0,416$ .
- Correlação positiva entre as concentrações de LDLc e a idade (Fig. 69) com um coeficiente de correlação igual a  $0,539$ .

No Quadro 41 apresentam-se correlações, para a toda a população normal estudada, entre as concentrações de CT, TG, LDLc, HDLc, apo A-I e apo B e as razões VLDLc/TG, Apo B/LDLc, Apo A-I/HDLc, HDLc/LDLc, HDLc/CT, HDLc/TG, com a idade, consumo de tabaco e consumo de café.

No Quadro 42 apresentam-se as correlações entre as concentrações de apo B e LDLc e as concentrações de apo A-I e HDLc, para a população masculina (normal e anormal), para a população feminina, assim como em toda a população normal.

Na população masculina normal verifica-se:

- Correlação positiva entre as concentrações de apo B e LDLc (Fig. 70), com um coeficiente de correlação igual a  $0,640$ .
- Correlação positiva entre as concentrações de apo A-I e HDLc (Fig. 71) com um coeficiente de correlação igual a  $0,309$ .

Na população masculina sobrevivente de EM e ou com angiografia positiva:

- Observa-se correlação positiva entre as concentrações de apo B e LDLc(mg/dl), (Fig.72), com um coeficiente de correlação igual a  $0,674$ .
- Correlação positiva entre as concentrações de apo A-I e HDLc(mg/dl) (Fig.73) com um coeficiente de correlação igual de  $0,319$ .

Na população feminina

- Nota-se correlação positiva entre as concentrações de apo B e LDLc, (Fig.74) com um coeficiente de correlação igual de  $0,678$ .

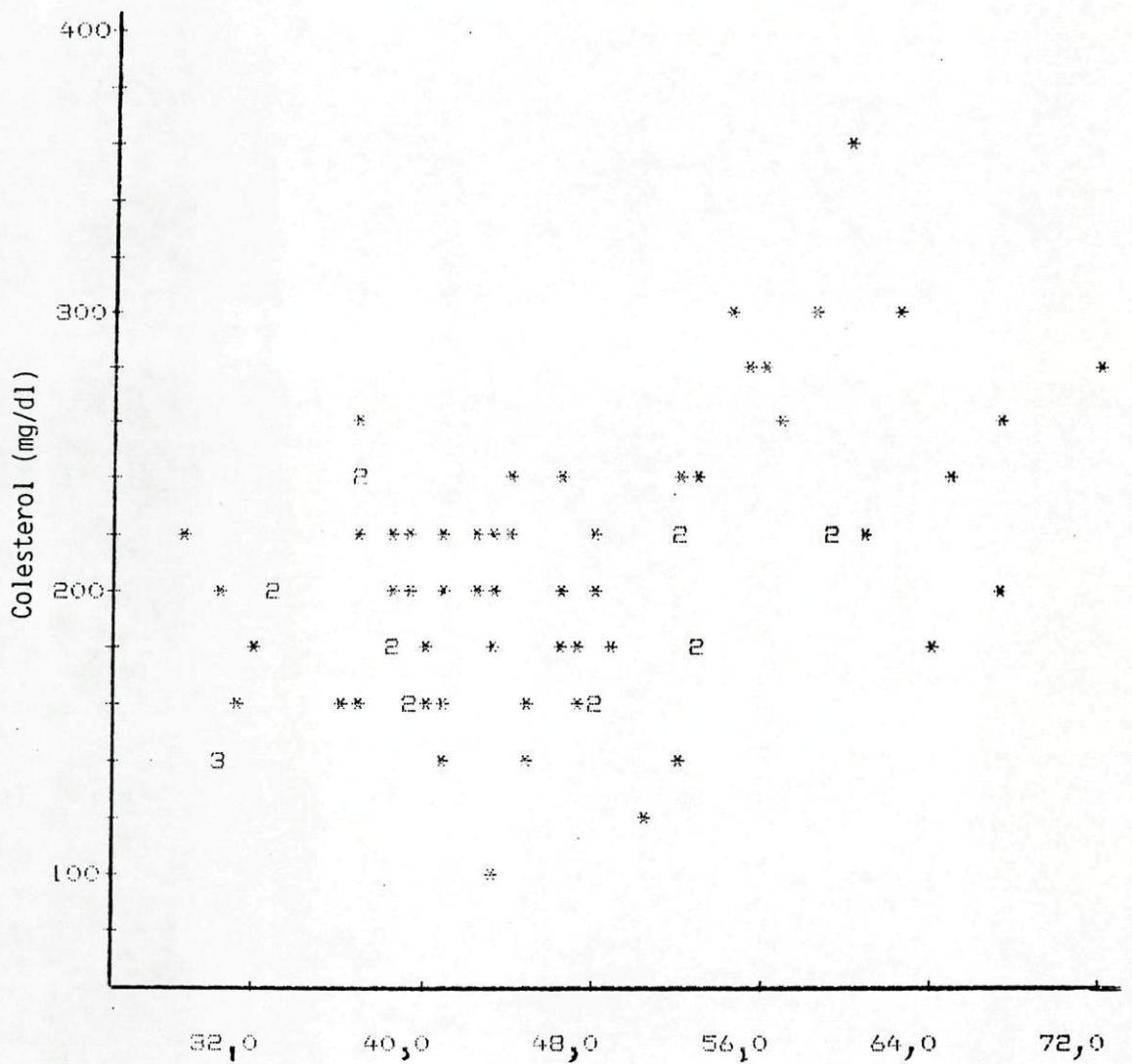
Em toda a população normal (masculina e feminina), verifica-se uma forte

Parâmetros	Idade	Tabaco	Café
Colesterol total	-0,134	0,063	-0,692
Triglicéridos	0,051	0,244	-0,186
LDLc	-0,126	-0,299	-0,677
HDLc	0,058	-0,049	-0,464
YLDLc		0,281	-0,061
Apo A-I	-0,134	-0,067	-0,304
Apo B	0,020	-0,189	-0,808
YLDLc/TG	-0,202		
Apo B/LDLc	0,144		
Apo A-I/HDLc	-0,100		
HDLc/LDLc	0,077		
HDLc/CT	0,086		
HDLc/TG	-0,012		

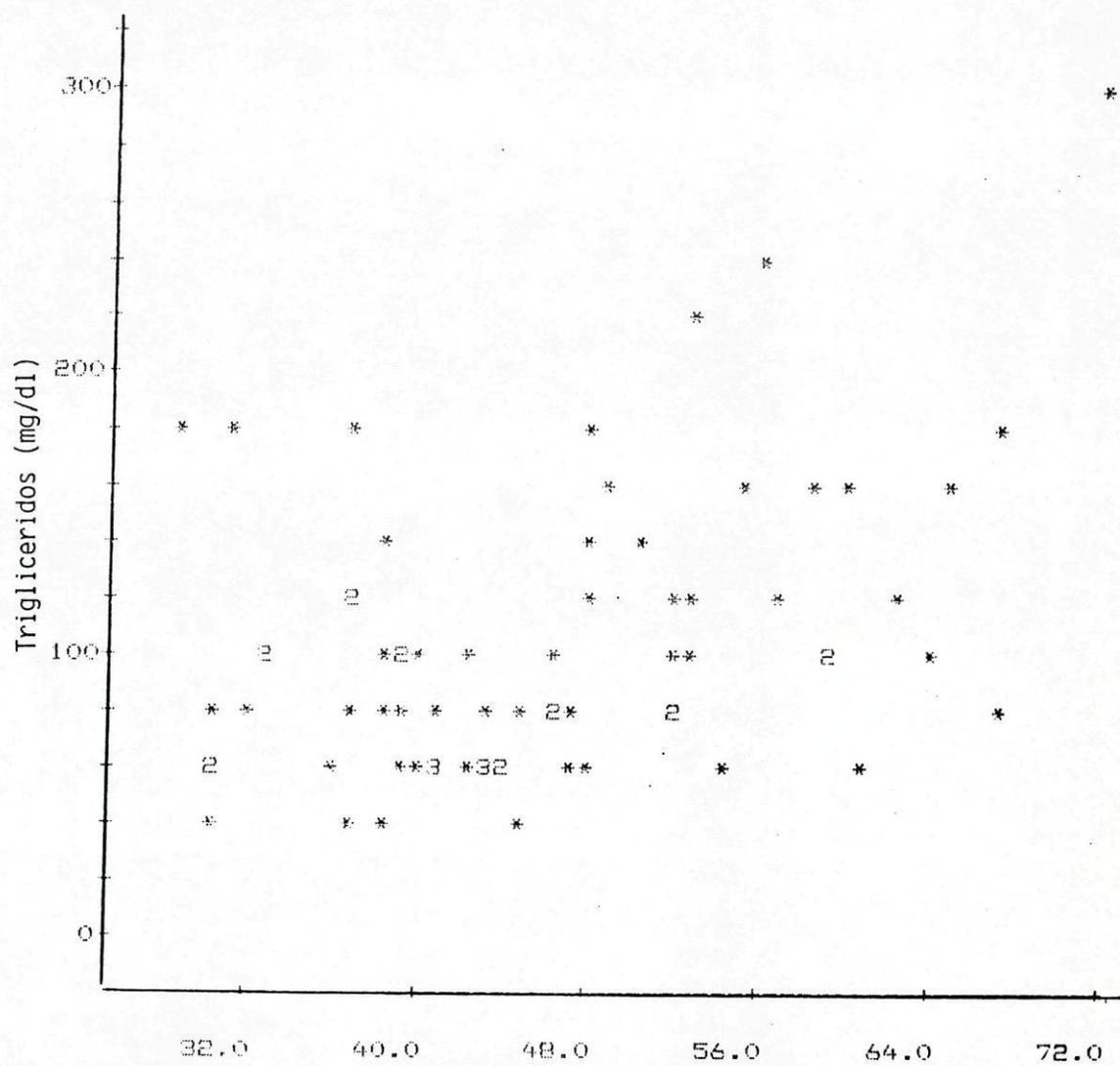
**Quadro 39.** Coeficientes de correlação para a população masculina sobrevivente a enfarte do miocárdio ou com angiografia positiva, entre parâmetros lipídicos e a idade e os consumos de tabaco e café.

Parâmetros	Idade	Tabaco	Café
Colesterol total	0,476	-0,129	-0,297
Triglicéridos	0,416	-0,035	-0,191
LDLc	0,539	-0,150	-0,431
HDLc	0,004	0,003	0,111
YLDLc	0,128	-0,004	0,054
Apo A-I	0,192	-0,100	-0,012
Apo B	0,273	-0,038	-0,208
YLDLc/TG	-0,148		
Apo B/LDLc	-0,248		
Apo A-I/HDLc	-0,081		
HDLc/LDLc	-0,256		
HDLc/CT	-0,240		
HDLc/TG	-0,262		

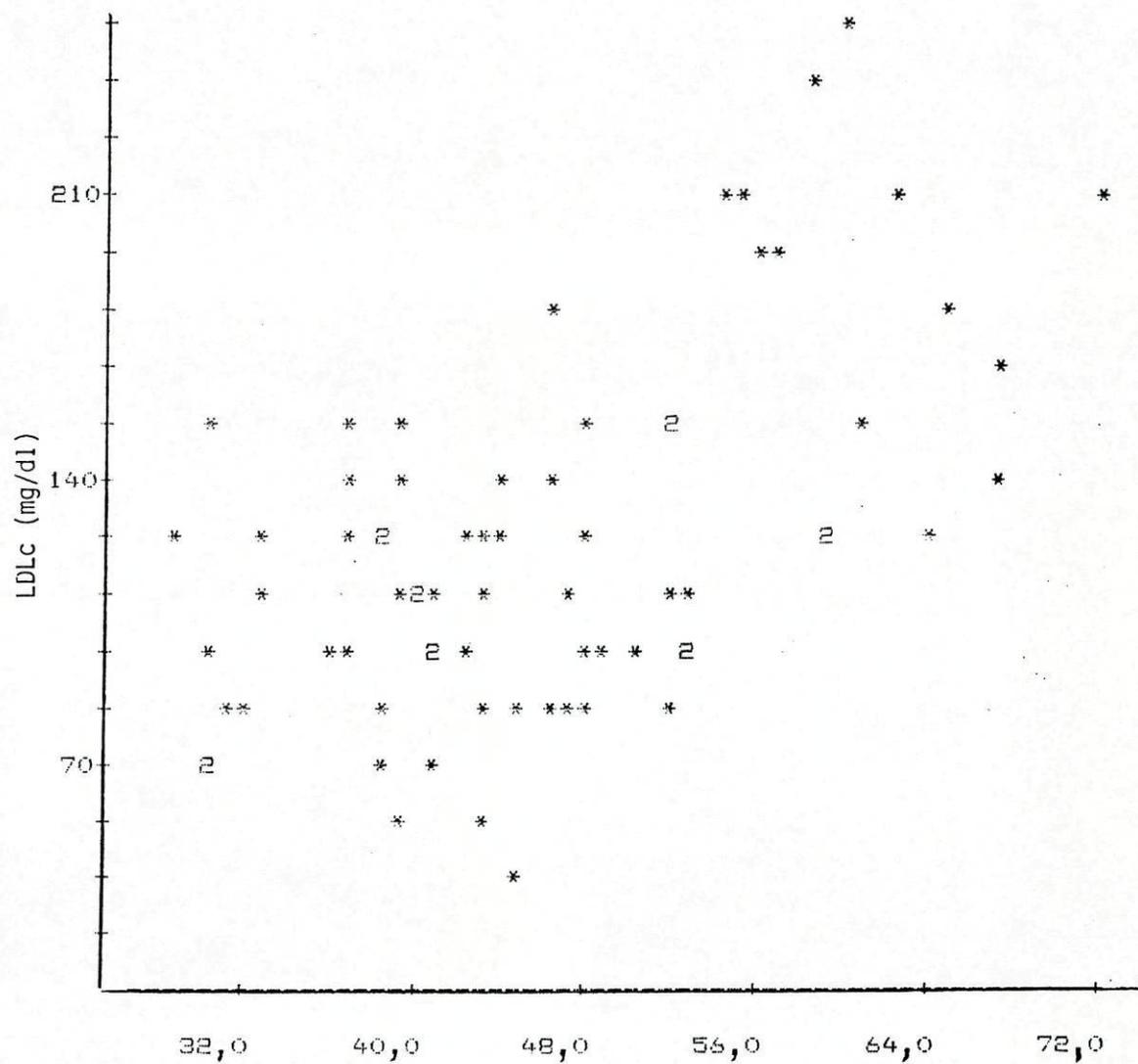
**Quadro 40.** Coeficientes de correlação para a população feminina normal entre parâmetros lipídicos e a idade e os consumos de tabaco e café.



**Figura 67.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de colesterol total e a idade na população feminina. Coeficiente de correlação igual a 0,476.



**Figura 68.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de triglicéridos e a idade na população feminina. Coeficiente de correlação igual a 0,416.



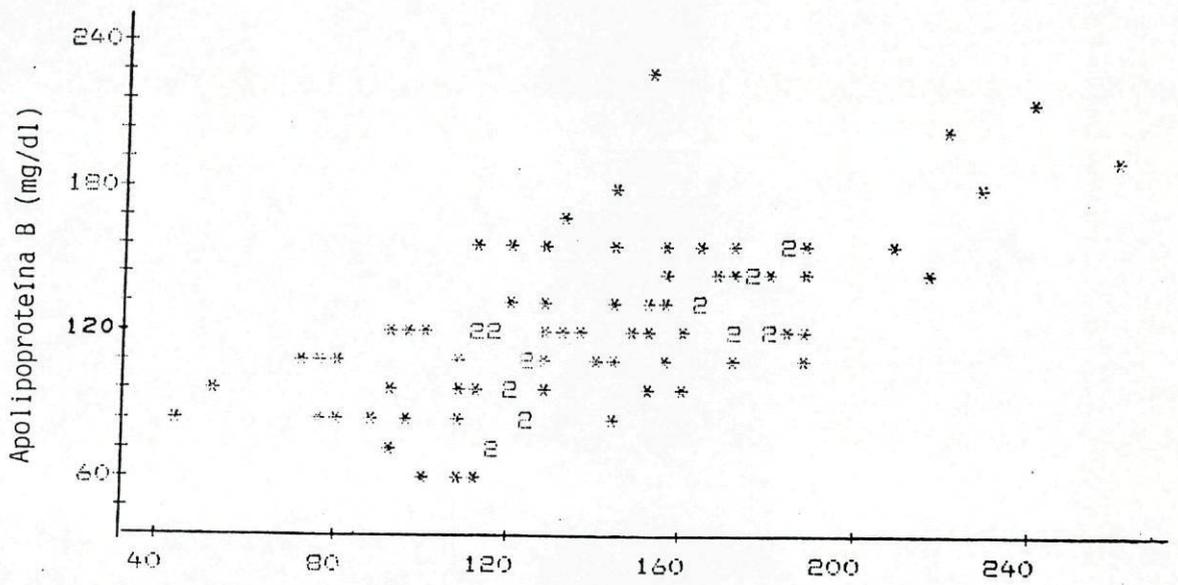
**Figura 69.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de LDLc e a idade na população feminina. Coeficiente de correlação igual a 0,539.

Parâmetros	Idade	Tabaco	Café
Colesterol total	0,161	0,090	-0,042
Triglicéridos	0,067		0,112
LDLc	0,252	0,289	-0,044
HDLc	0,110	-0,096	-0,024
YLDLc		-0,254	0,101
Apo A-I	-0,177	-0,073	-0,029
Apo B	0,090	0,226	0,167
YLDLc/TG	-0,008		
Apo B/LDLc	-0,037		
Apo A-I/HDLc	-0,134		
HDLc/LDLc	-0,101		
HDLc/CT	-0,059		
HDLc/TG	-0,065		

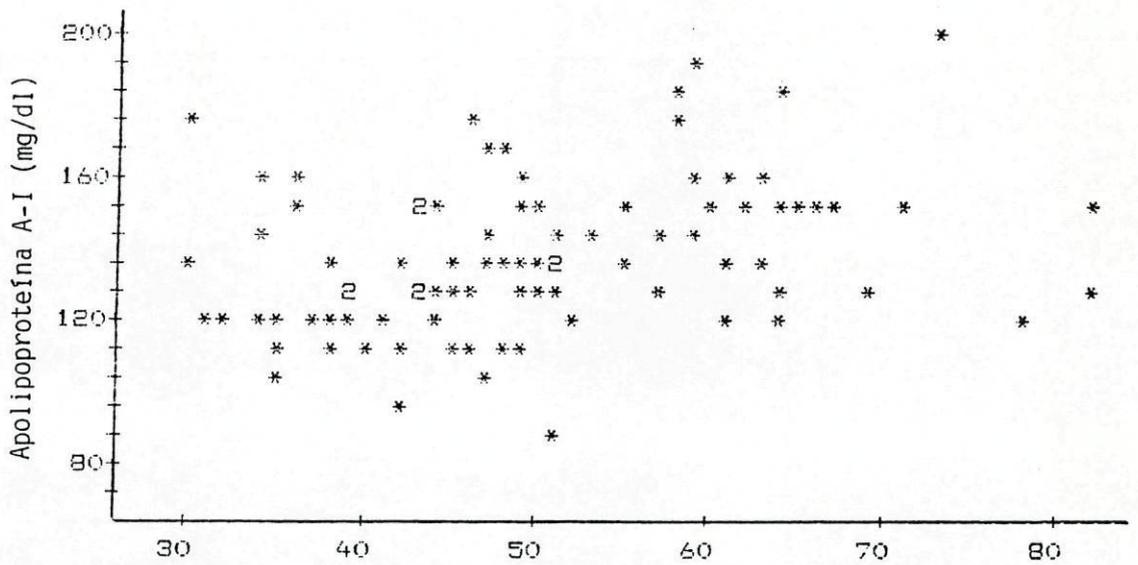
**Quadro 41.** Coeficientes de correlação para toda a população normal entre parâmetros lipídicos e a idade e os consumos de tabaco e café.

Populações	Apo B e LDLc	Apo A-I e HDLc	Apo B e CT
Masculina normal	0,640	0,309	
Feminina normal	0,678	0,154	
Masculina sobrevivente de EM ou com AP	0,674	0,319	
Toda a população normal	0,630	0,234	0,624

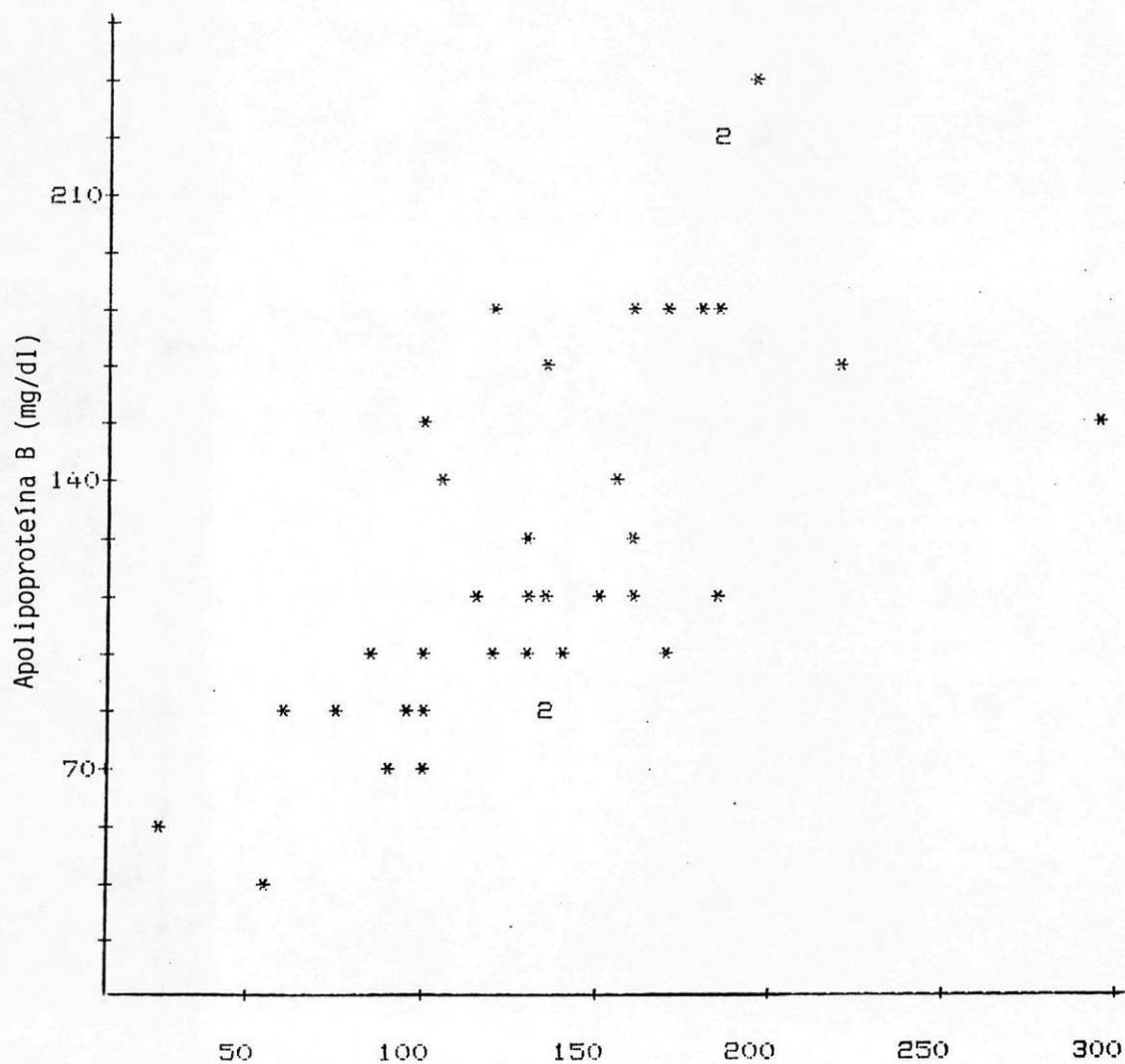
**Quadro 42.** Coeficientes de correlação entre alguns parâmetros lipídicos para a população normal e sobrevivente enfarte do miocárdio (EM) ou com angiografia positiva (AP).



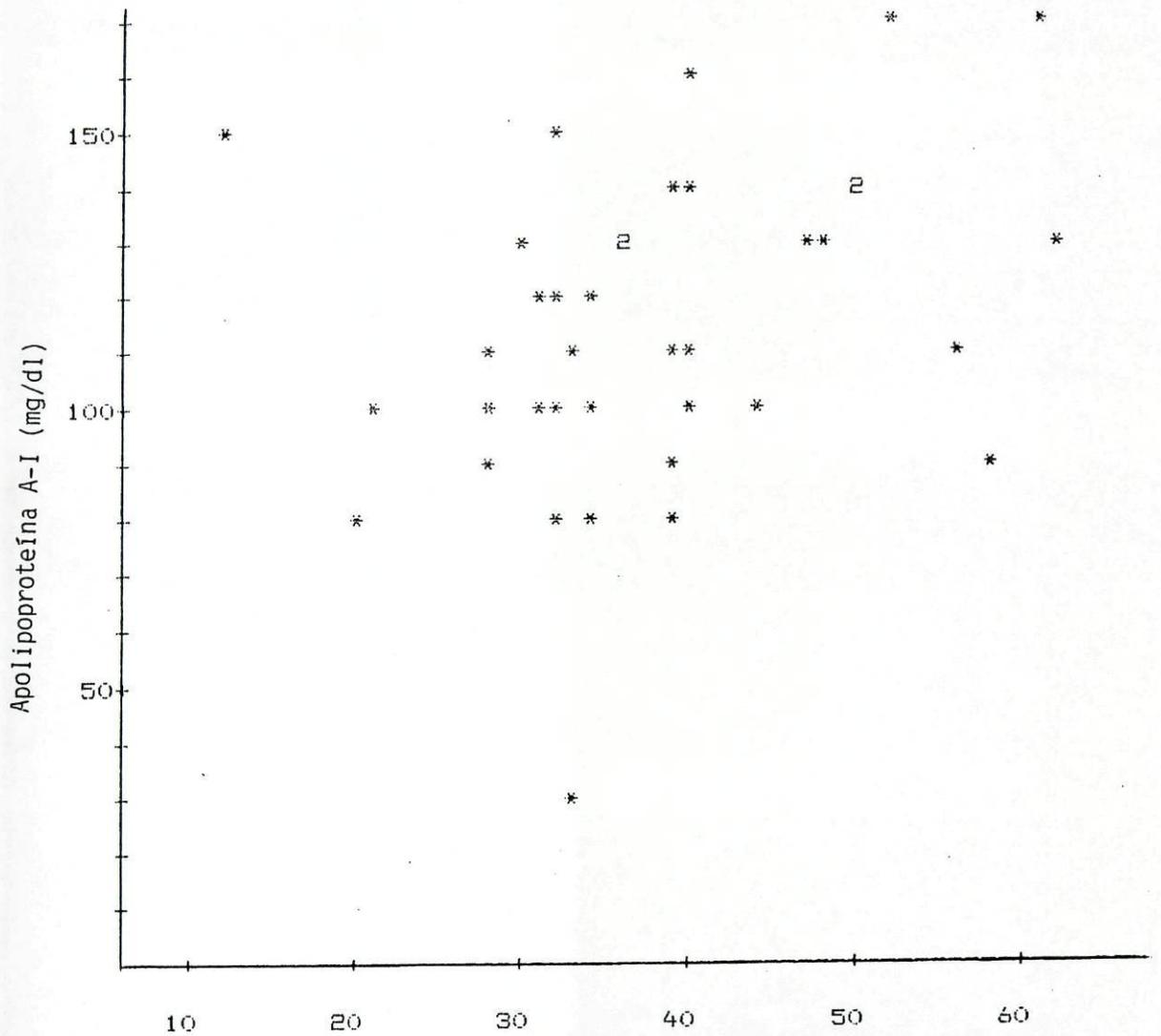
**Figura 70.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de apolipoproteína B e LDLc na população masculina normal. Coeficiente de correlação igual a 0,640.



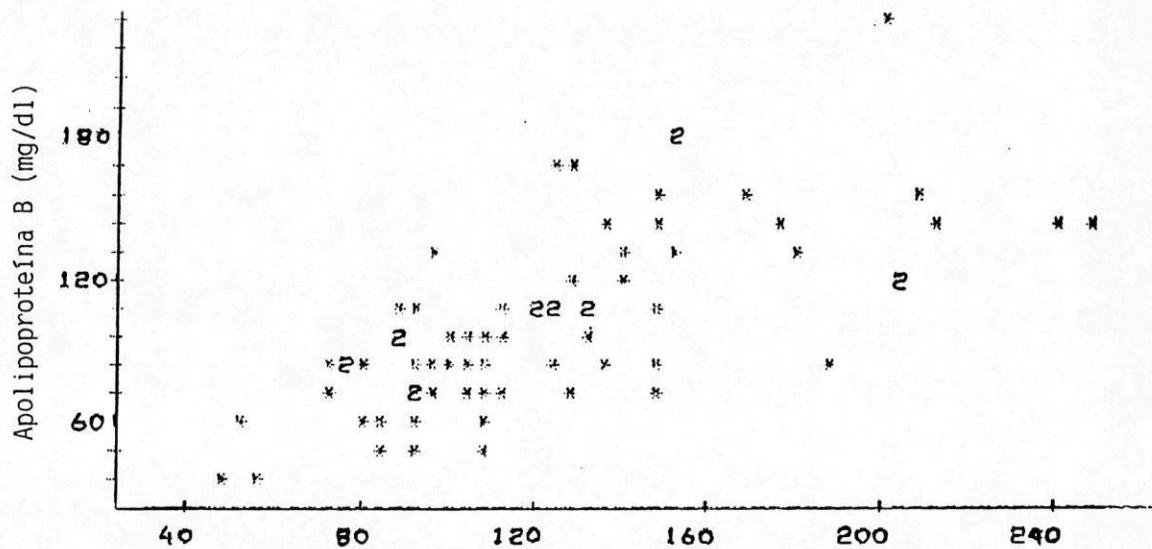
**Figura 71.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de apolipoproteína A-I e HDLc na população masculina normal. Coeficiente de correlação igual a 0,309.



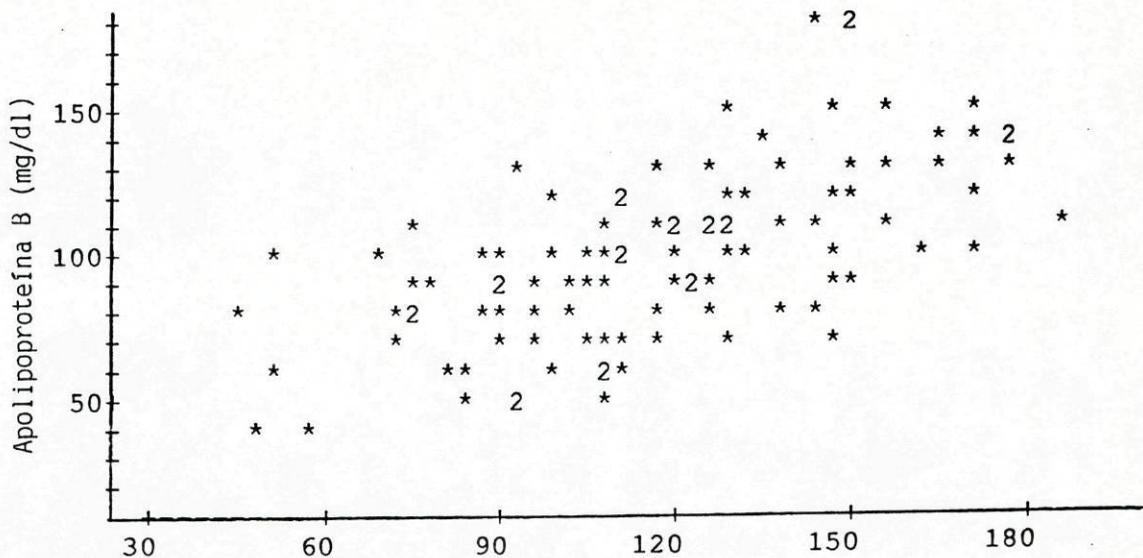
**Figura 72.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de apolipoproteína B e LDLc na população masculina sobrevivente de enfarte de miocárdio e ou com angiografia positiva. Coeficiente de correlação igual a 0,674.



**Figura 73.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de apolipoproteína A-I e HDLc na população masculina sobrevivente de enfarte de miocárdio e ou com angiografia positiva. Coeficiente de correlação igual a 0,319.



**Figura 74.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de apolipoproteína B e LDLc na população feminina. Coeficiente de correlação igual a 0,678.



**Figura 75.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de apolipoproteína B e LDLc em toda a população normal (masculina e feminina). Coeficiente de correlação igual a 0,630.

correlação positiva entre as concentrações de apo B e LDLc com um coeficiente de correlação igual a 0,630 (Fig.75) e correlação positiva entre as concentrações de Apo A-I e HDLc com um coeficiente de correlação igual a 0,234 (Fig.76), e correlação positiva entre as concentrações de apo B e CT, com um coeficiente de correlação igual a 0,624 (Fig.77).

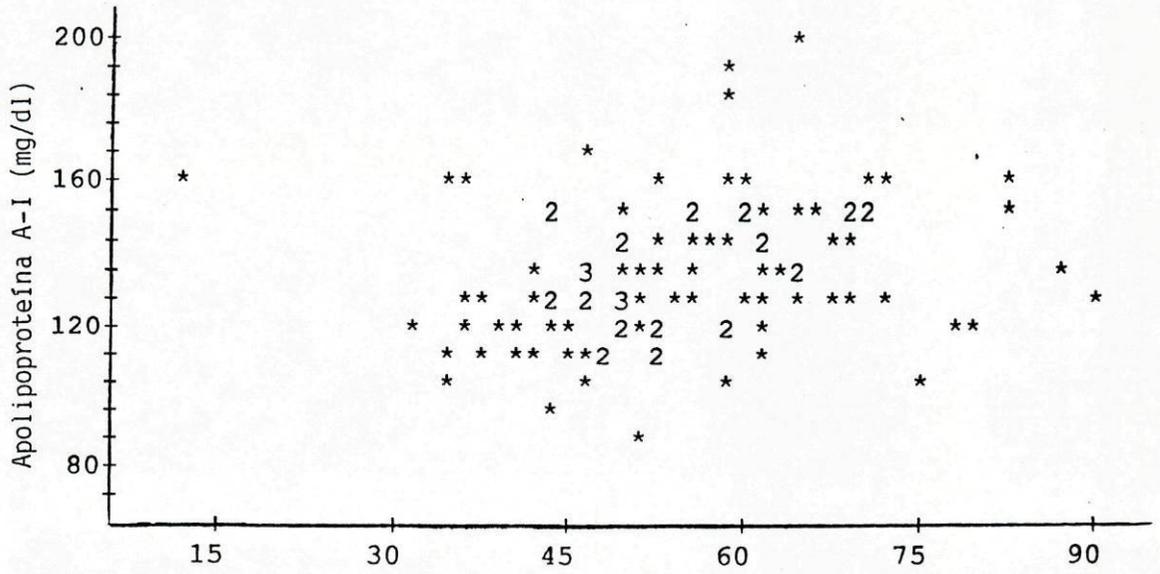
Se se compararem as Fig. 78, 79 e 80, que representam, respectivamente, a representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de CT (mg/dl) e o número de chávenas de café ingeridas diariamente na população feminina, masculina normal e masculina anormal, torna-se notória a correlação negativa entre as concentrações de CT e o número de chávenas de café ingeridas diariamente nos sobreviventes de EM e/ou com angiografia positiva, correlação negativa que se observa ainda na população feminina estudada, e que deixa de se observar na população masculina normal estudada, porém o número reduzido de casos estudados na Fig. 80 não permite tirar conclusões.

Analogamente, entre as concentrações de apo B e ingestão diária de café, verifica-se uma correlação fortemente negativa na população constituída por sobreviventes de EM e/ou, com angiografia positiva (Fig.83); uma correlação negativa, embora menos evidente do que a observada para as concentrações de CT e LDLc na população feminina (Fig.81), e também aqui se perde a correlação entre as concentrações de apo B e ingestão de café na população masculina normal estudada (Fig.82).

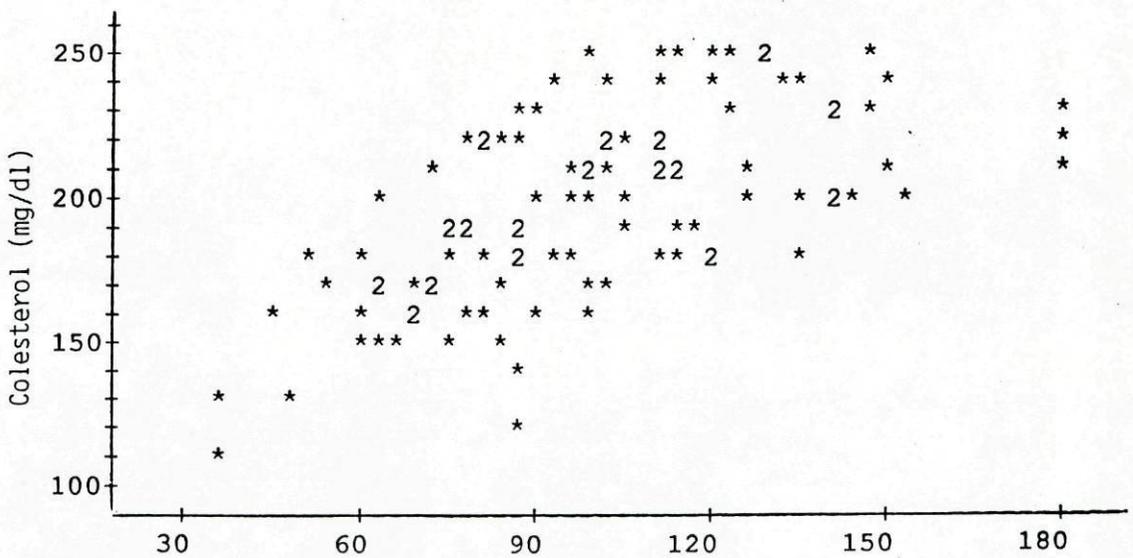
Observação semelhante se verifica para as concentrações de LDLc e a ingestão de café. Obtendo-se uma correlação fortemente negativa nos sobreviventes de EM e/ou angiografia positiva (Fig.86), uma correlação negativa para a população feminina estudada (Fig.84), e ausência de correlação verificada na população masculina normal estudada (Fig.85).

No Quadro 43 comparam-se as concentrações de CT, TG, HDLc e LDLc obtidos na população do Porto com os referenciados para a população inglesa [216]. Verificam-se diferenças significativas ( $t > 2$ ) entre concentrações de LDLc na população masculina e de HDLc na população masculina e feminina (podendo também encontrar-se aqui a justificação da diferença de índices de mortalidade verificadas por DCV nos dois países). Ver Fig. 7.

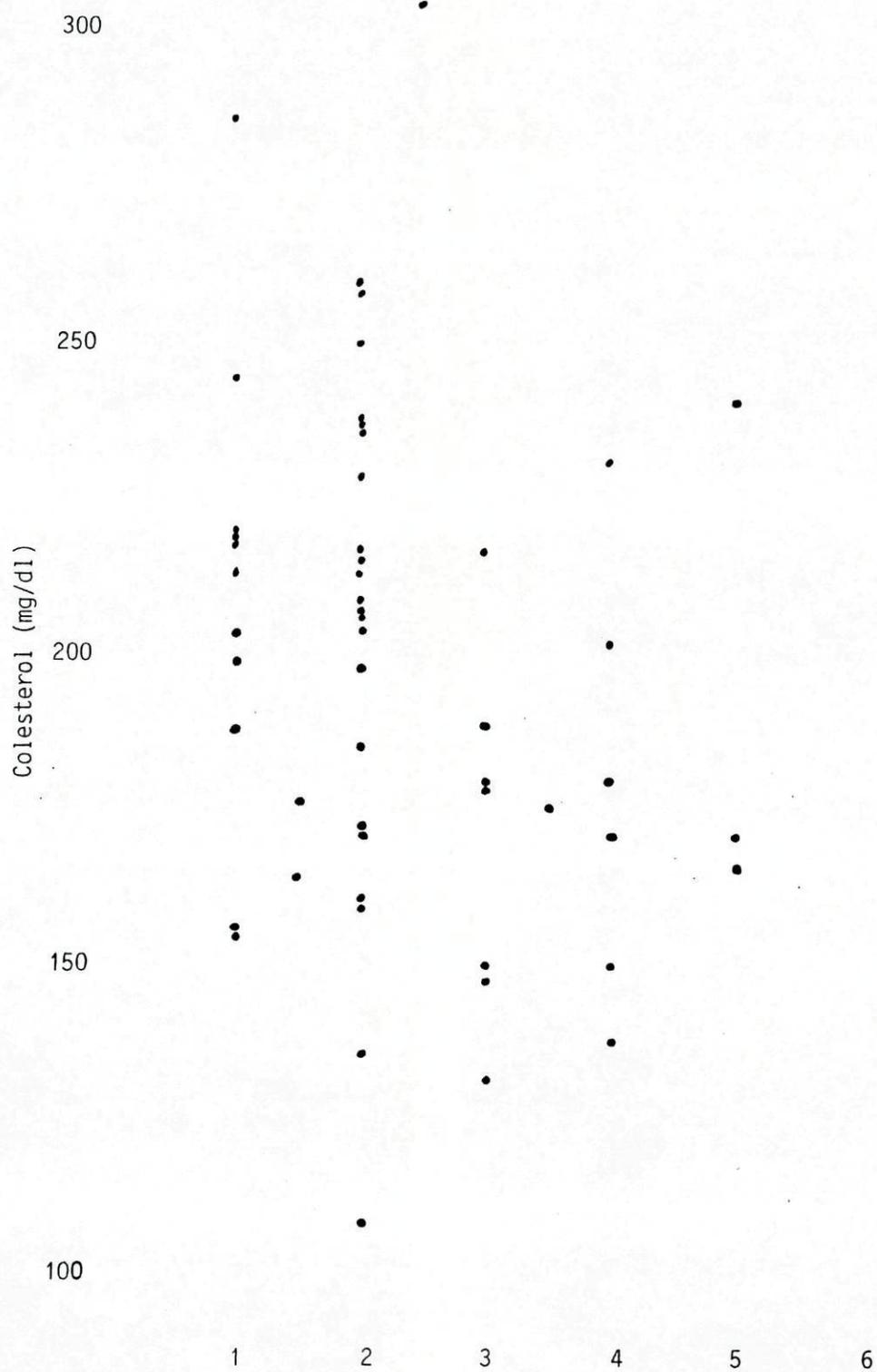
No Quadro 44 comparamos as concentrações de apo A-I e Apo B com os valores referenciados por Kukita e col. [86] e por Alaupovic e col. [173]. Verifica-se diferença significativa ( $t > 2$ ) para todos os casos de população masculina. Na população feminina apenas não se verifica diferença significativa para as concentrações de apo A-I quando comparadas com os valores da população do Porto com os referidos por Kukita e col.



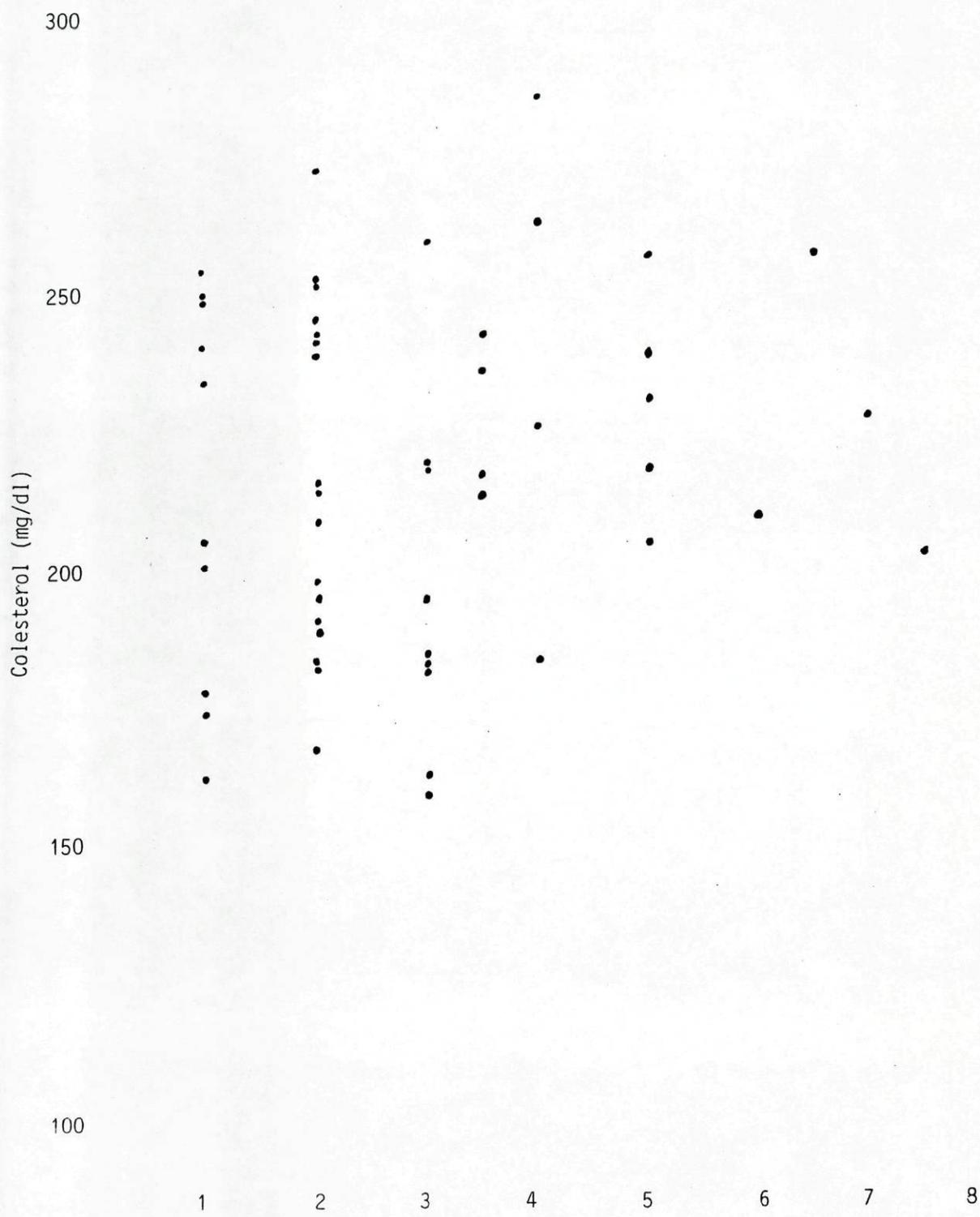
**Figura 76.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de apolipoproteína A-I e HDLc em toda a população normal (masculina e feminina). Coeficiente de correlação igual a 0,234.



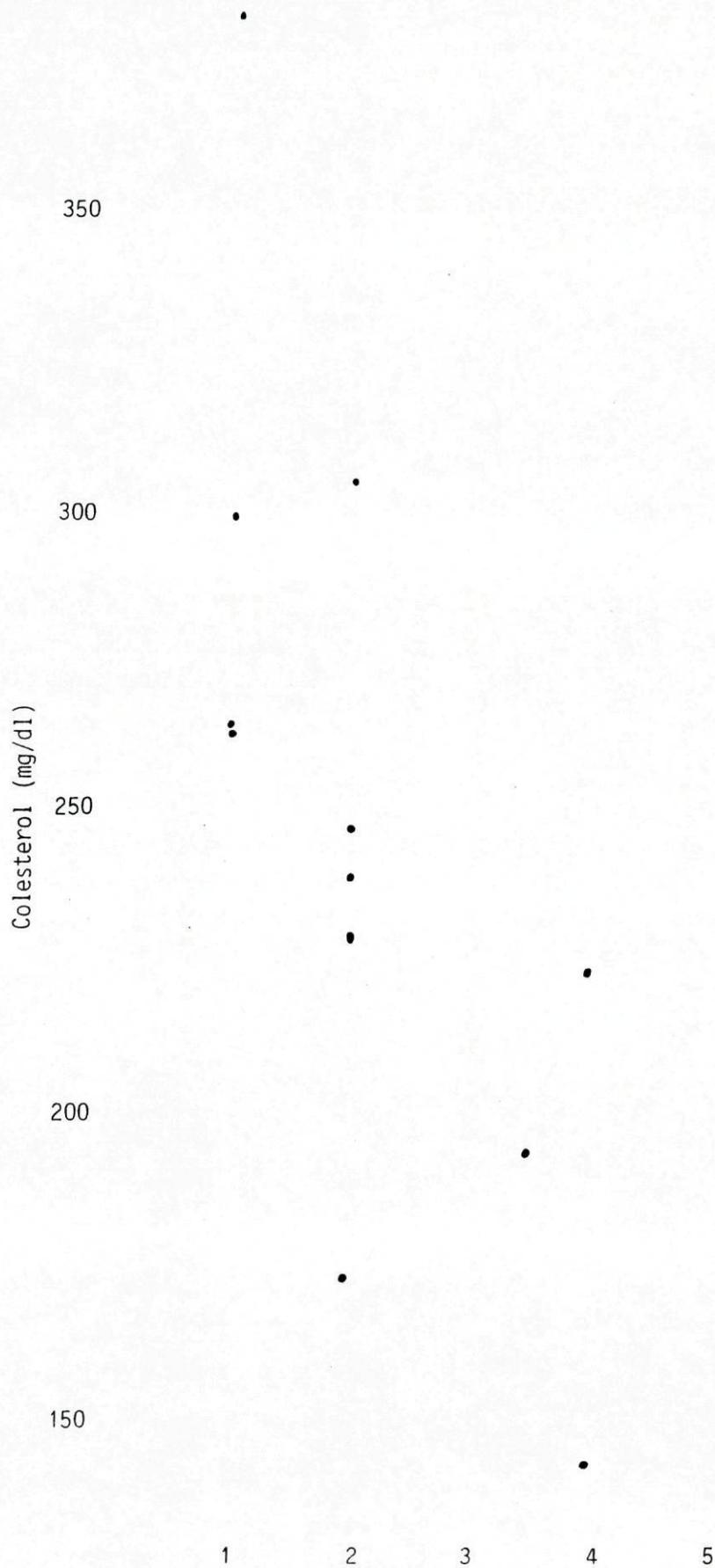
**Figura 77.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de apolipoproteína B e colesterol em toda a população normal (masculina e feminina). Coeficiente de correlação igual a 0,624.



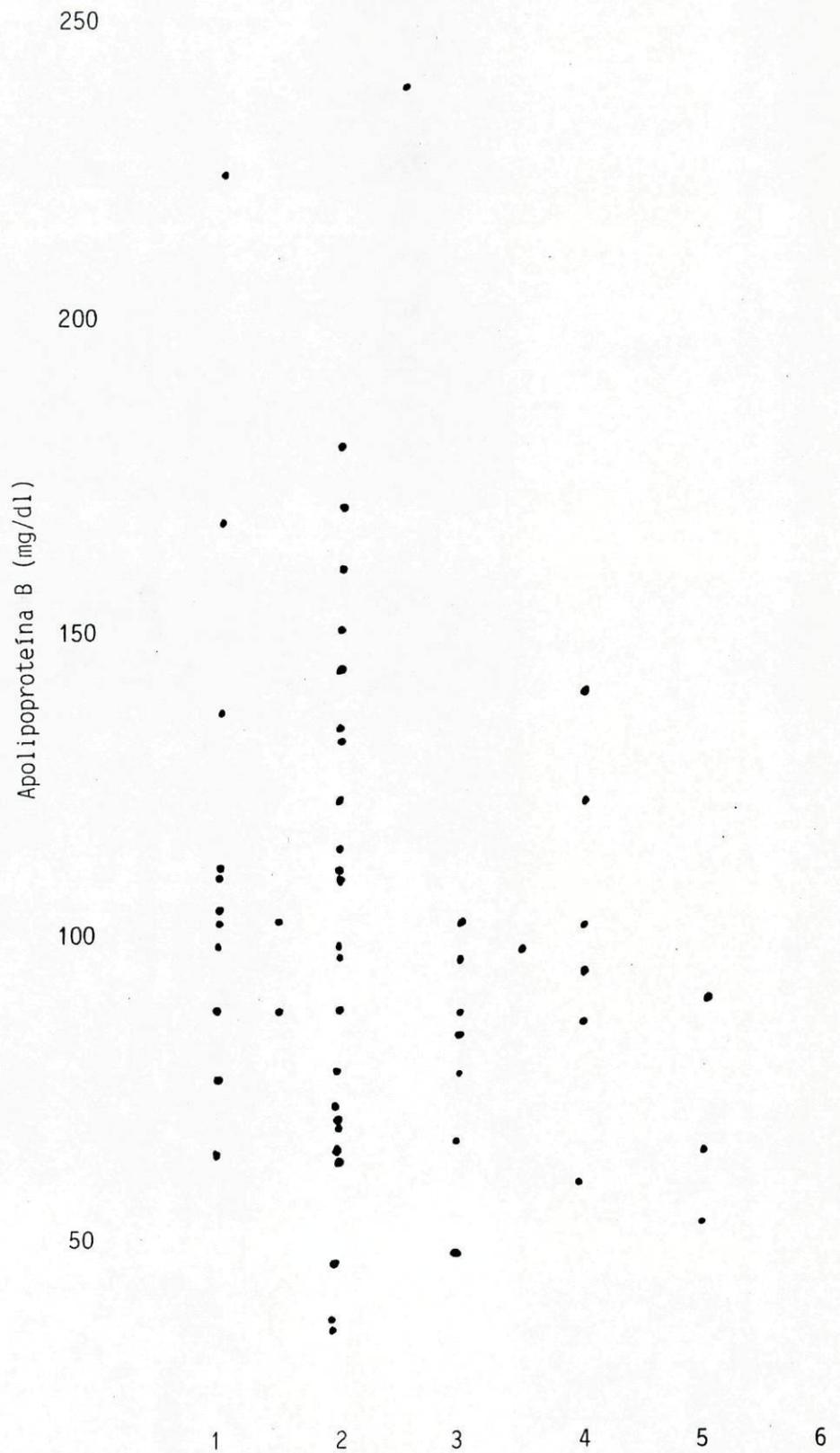
**Figura 78.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de colesterol e o número de chávenas de café ingeridas diariamente, na população feminina normal. Coeficiente de correlação igual a  $-0,297$ .



**Figura 79.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de colesterol e o número de chávenas de café ingeridas diariamente, na população masculina normal. Coeficiente de correlação igual a 0,213.



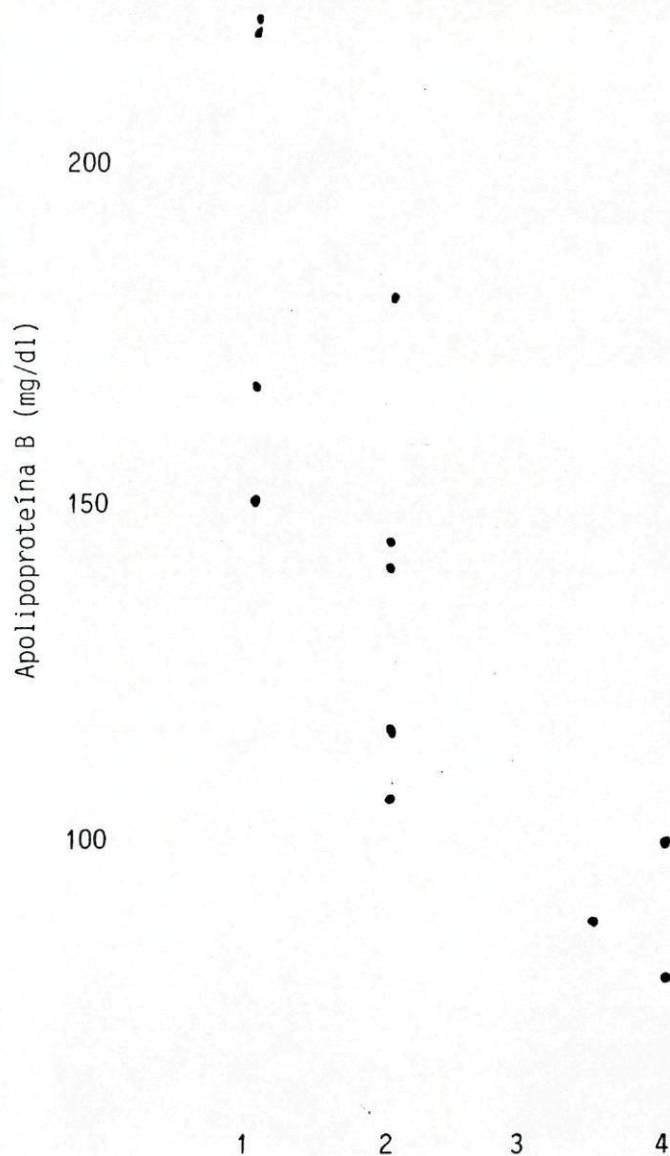
**Figura 30.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de colesterol e o número de chávenas de café ingeridas diariamente, na população masculina sobrevivente de enfarte de miocárdio e ou com angiografia positiva. Coeficiente de correlação igual a  $-0,692$ .



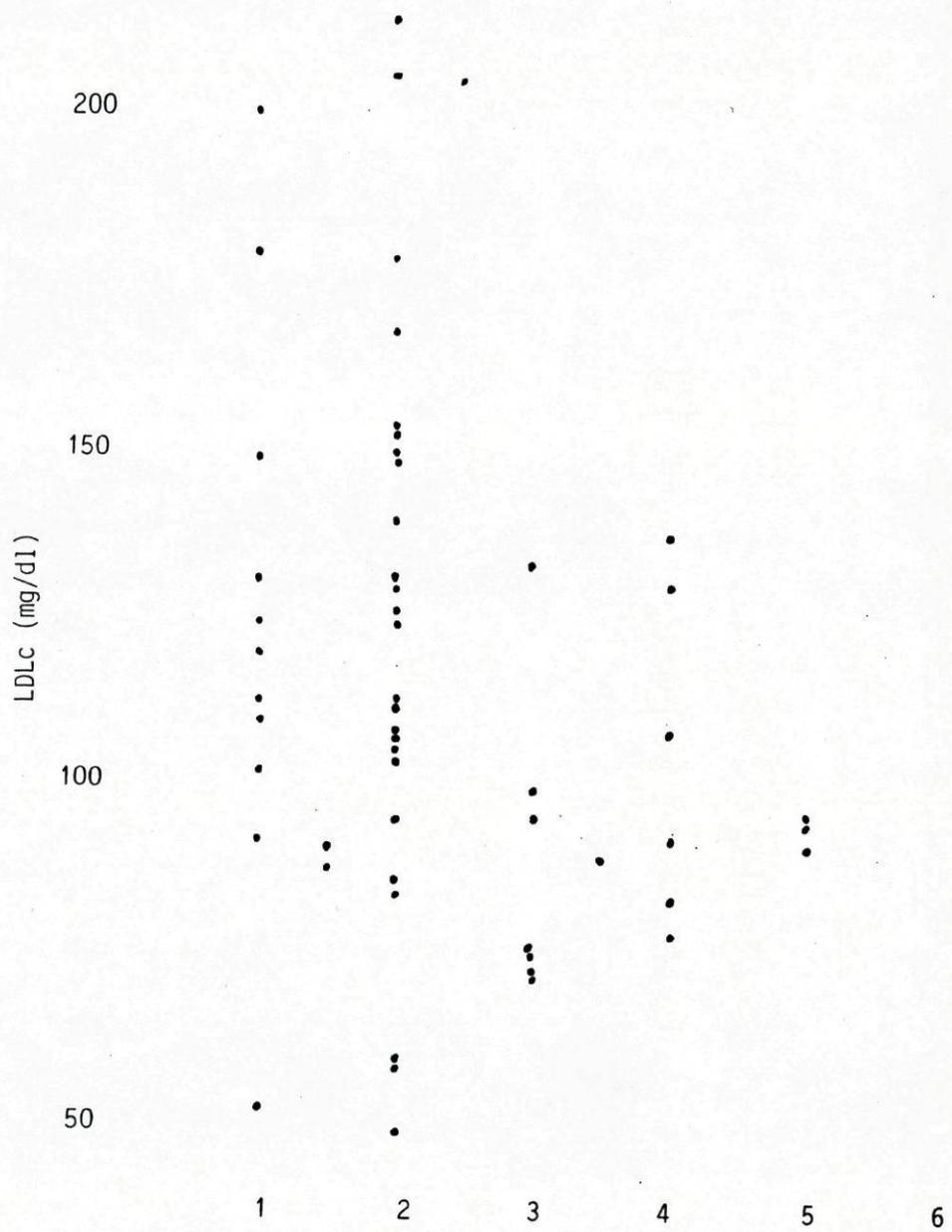
**Figura 81.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de apolipoproteína B e o número de chávenas de café ingeridas diariamente, na população feminina normal. Coeficiente de correlação igual a -0,208.



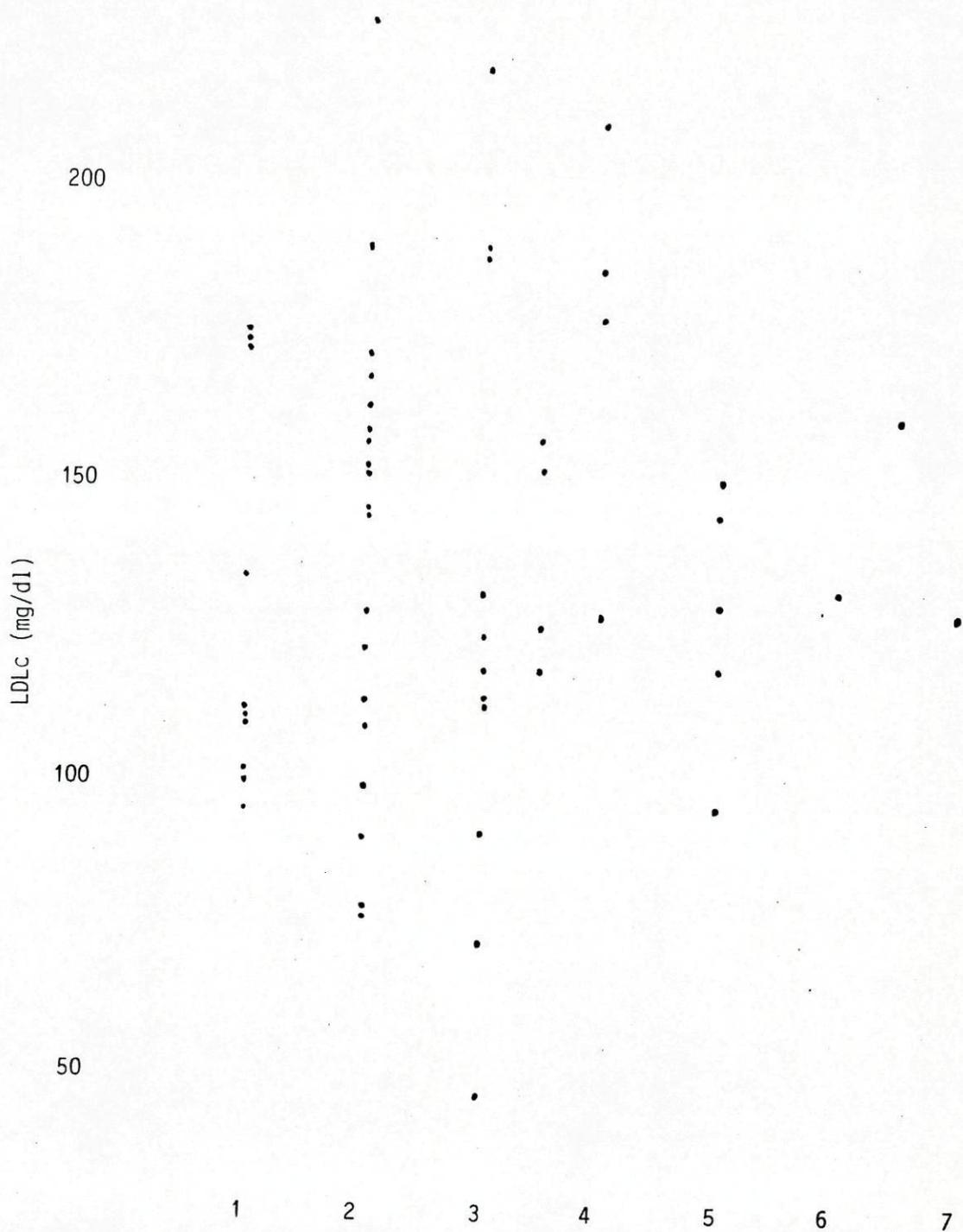
**Figura 32.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de apolipoproteína B e o número de chávenas de café ingeridas diariamente, na população masculina normal. Coeficiente de correlação igual a 0,265.



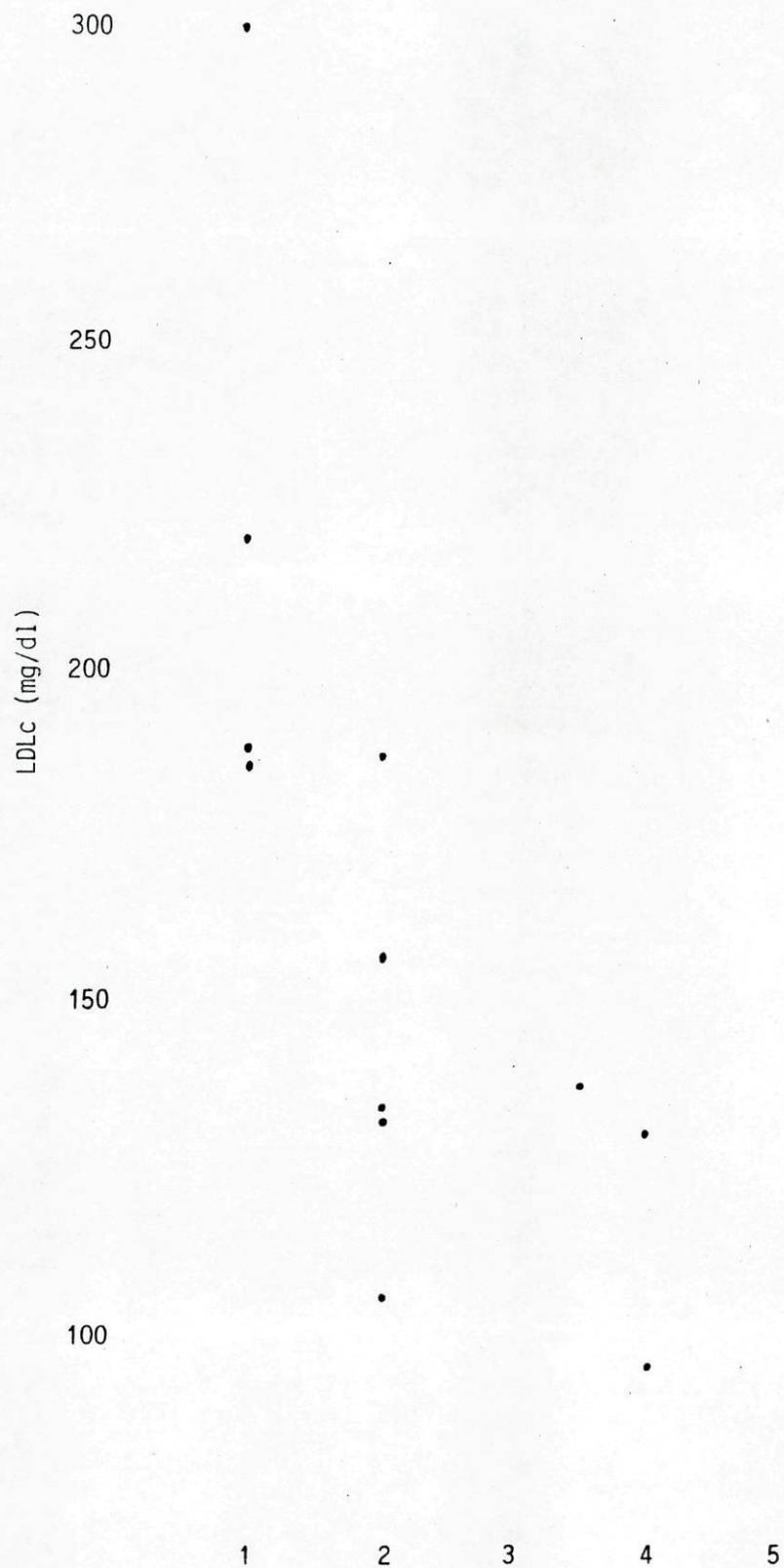
**Figura 83.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de apolipoproteína B e o número de chávenas de café ingeridas diariamente, na população masculina sobrevivente de enfarte de miocárdio e ou com angiografia positiva. Coeficiente de correlação igual a  $-0,808$ .



**Figura 84.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de LDLc e o número de chávenas de café ingeridas diariamente, na população feminina normal. Coeficiente de correlação igual a  $-0,431$ .



**Figura 85.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de LDLc e o número de chávenas de café ingeridas diariamente, na população masculina normal. Coeficiente de correlação igual a 0,173.



**Figura 86.** Representação gráfica da correlação obtida entre as concentrações de LDLc e o número de chávenas de café ingeridas diariamente, na população masculina sobrevivente de enfarte de miocárdio e ou com angiografia positiva. Coeficiente de correlação igual a  $-0,677$ .

População masculina normal					
Método	Casos	CT	TG	HDLc	LDLc
População do Porto	88	228±42	160±81	50±12	140±41
População inglesa	5841	225±46	158±123	54±15	139±42
t		0,61	0,15	2,5	0,22

População feminina normal					
Método	Casos	CT	TG	HDLc	LDLc
População do Porto	72	203±48	102±50	55±11	123±43
População inglesa	6251	224±46	114±79	62±15	135±39
t		3,8	1,3	3,9	2,6

**Quadro 43.** Comparação dos valores médios em mg/dl de componentes séricos entre a população do Porto e de um estudo da população inglesa [216]. Representam-se os valores de t para as diferenças das concentrações de colesterol total (CT), triglicerídeos (TG), colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDLc) e colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDLc) obtidos por ultracentrifugação diferencial.

População masculina			
Dados	Casos	apo A-I	apo B
População do Porto	88	138±21	121±33
Kukita e col. [86]	80	130±18	84±20
t		2,6	8,6
População do Porto	88	138±21	121±33
Alaupovic e col. [173]	69	127±23	100±27
t		3,1	4,3

População feminina			
Dados	Casos	apo A-I	apo B
População do Porto	72	135±19	102±38
Kukita e col. [86]	74	139±17	82±12
t		1,3	4,3
População do Porto	72	135±19	102±38
Alaupovic e col. [173]	85	147±26	92±23
t		3,2	2,0

**Quadro 44.** Comparação dos valores médios em mg/dl de componentes séricos entre a população do Porto e de dois estudos nos Estados Unidos. Representam-se os valores de apolipoproteína A-I (apo A-I) e apolipoproteína B (apo B) e os valores de t.

## 15 - Conclusões

Deste estudo realizado numa amostragem da zona norte de Portugal pode concluir-se:

Os valores de referência das concentrações de CT e LDLc devem ser subdivididos por grupos etários para os indivíduos do sexo masculino.

Para a população feminina, os valores de referência das concentrações de CT, TG, LDLc e apo B, devem ser subdivididas por grupos etários. Assim como as razões das concentrações de apo A-I/B e CT/HDLc.

Os valores de referência são diferentes para o sexo masculino e feminino nas concentrações de CT, TG, VLDLc, LDLc, HDLc, apo B e nas razões das concentrações de HDLc/LDLc, apo B/CT, Apo A-I/apo B, CT/HDLc.

Na população feminina, as concentrações de CT aumentam com a idade à custa do aumento de LDLc. As concentrações de apo A-I também aumentam com a idade. Confirma-se o efeito protector para DCV, dos estrogénios nas mulheres entre 30-49 anos, efeito que diminui entre os 50-59 anos, anulando-se a partir dos 60. É por isso aconselhável a compensação hormonal para as mulheres pós-menopausa.

De notar a forte correlação positiva verificada entre as concentrações de apo B e LDLc e a correlação positiva encontrada entre os valores de apo A-I e HDLc.

Chama-se a atenção para as correlações observadas entre as concentrações de CT, LDLc, apo B e o número de chávénas de café ingerido diariamente, nos sobreviventes de EM e/ ou com angiografia positiva. Lamenta-se que o número de indivíduos estudados neste grupo não nos permita tirar conclusões.

O método de ultracentrifugação diferencial e o método electroforético não nos fornecem resultados interconvertíveis para as concentrações de VLDLc e LDLc, devendo por isso cada método ter os seus valores de referência e significado clínico próprios. No entanto, os dois métodos fornecem resultados em que se não verifica diferença significativa para as concentrações de HDLc.

Os valores de referência fornecidos na literatura não devem ser adaptados no laboratório sem prévia confirmação e quando necessário devem substituir-se.

A conclusão mais importante deste trabalho é que, em função dos resultados obtidos, as concentrações de HDLc e apo A-I são as determinações que melhor diferenciam os indivíduos de "baixo risco" dos de "alto risco" para as DCV, em todos os diferentes grupos etários na população masculina da zona do Porto e arredores.

As concentrações de apo B e a razão da concentração de HDLc/LDLc, de apo B/CT, de apo A-I/B, de CT/HDLc, fornecem indicação de risco no grupo etário dos 50-59 anos. Daí que se sugere que estas razões sejam utilizadas como auxiliares de diagnóstico.

## 16 - Bibliografia

- [1] - McGill Jr. H.C.: The pathogenesis of atherosclerosis. *Clinical Chemistry*, **34**, 8 (B), 33-39, 1988.
- [2] - Kuller L.H., Orchard T.J.: The epidemiology of atherosclerosis in 1987, Unraveling a common-source epidemic. *Clinical Chemistry*, **34**(B), 40-48, 1988.
- [3] - Stamler J.: The marked decline in coronary heart disease mortality. Rates in the United States, 1968-1981; summary of findings and possible explanations. *Cardiology*, **72**, 11- 22, 1985.
- [4] - Pyörälä K., Salonen J.T., Valkonen T.: Trends in coronary heart disease mortality and morbidity and related factor in Finland. *Cardiology*, **72**, 35-51, 1985.
- [5] - Thelle D.S.: Coronary heart disease mortality trends and related factors in Norway. *Cardiology*, **72**, 52-58, 1985.
- [6] - Welin L., Wilhelmsen L., Svärdsudd K., Larsson B., Tibblin G.: Increasing mortality from coronary heart disease among males in Sweden. *Cardiology*, **72**, 75-80, 1985.
- [7] - Balaguer-Vintró I., Sans S.: Coronary heart disease mortality trends and related factors in Spain. *Cardiology*, **72**, 97-104, 1985.
- [8] - Pyörälä K., Epstein F.H., Kornitzer M.: Changing trends in coronary heart disease mortality. *Cardiology*, **72**, 5-10, 1985.
- [9] - McGill Jr. H.C.: The cardiovascular pathology of smoking. *American Heart Journal*, **115**, 250-256, 1988.
- [10] - Crouse III J.R.: Gender lipoproteins, diet and cardiovascular risk. *The Lancet I*, 318-320, 1989.
- [11] - Musliner T.A., Krauss R.M.: Lipoprotein subspecies and risk of coronary disease. *Clinical Chemistry*, **34**, 8 (B), 78-83, 1988.
- [12] - Hulley S.B., Rosenman R.H., Bawol R.D., Brand R. J.: Epidemiology as a guide to clinical decisions. The association between triglyceride and coronary heart disease. *The New England Journal of Medicine*, **302**, 1383-1389, 1980.
- [13] - Zilversmit D.B.: Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation*, **60**, 473-485, 1979.
- [14] - Shephard M.D.S., Hester J., Walmsley R.N., White G.H.: Variation in plasma apolipoprotein A-I and B concentrations following myocardial infaction. *Ann Clin Biochem*, **27**, 9-14, 1990.
- [15] - McCarthy N.: Anti-oxidant vitamins and cardiovascular disease prophylaxis. *Cardiology in Practice*, **28**, 1990.
- [16] - Ramsdale D.R., Faragher E.B., Bray C. L., Bennett D.H., Ward C., Beton D.C.: Smoking and coronary artery disease assessed by routine coronary

arteriography. *British Medical Journal*, **290**, 197-200, 1985.

- [17] - Wilhelmsen L., Svärdsudd K., Korsan-Bengsten K., Larsson B., Welin L., Tibblin G.: Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. *The New England Journal of Medicine*, **311**, 501-503, 1984.
- [18] - Ross R.: The pathogenesis of atherosclerosis - an update. *The New England Journal of Medicine*, **314**, 488-500, 1986.
- [19] - Stary H.C.: Macrophages, macrophage foam cells, and eccentric intimal thickening in the coronary arteries of young children. *Atherosclerosis*, **64**, 91-108, 1987.
- [20] - Benditt E.P.: Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques and some implications. *Circulation*, **50**, 650-652, 1974.
- [21] - Ketz S.S.: The lipids of grossly normal human aortic intima from birth to old age. *The Journal of Biological Chemistry*, **256**, 12275-12280, 1981.
- [22] - Assman G.: *Lipid Metabolism and Atherosclerosis*, 1982, Schattner -Verlag
- [23] - Smith E.B., Slater R.S.: Relationship between low density lipoprotein in aortic intima and serum lipid levels, *The Lancet*, **I**, 463-469, 1972.
- [24] - Benditt E.P.: Implication of the monoclonal character of human atherosclerotic plaques, *American Journal of Pathology*, **86**, 693-701, 1977
- [25] - Ross R.: Cellular Interactions in the Development of Atherosclerosis. Lipoproteins and coronary heart disease. *Proceeding of the Glasgow Heart Disease Symposium*, 55-59, September 1984.
- [26] - Ross R., Harker L.: Hyperlipidemia and atherosclerosis. *Science*, **193**, 1094-1099, 1976.
- [27] - Gaton E. and Wolman M.: The role of smooth muscle cells and hematogenous macrophages in atheroma. *J. Pathol.*, **123**, 123-127, 1977.
- [28] - Schaffner T., Taylor K., Bartucci E.J., Fischer-Dzoga K., Beeson J.H., Glagov S., Wissler R.W.: Arterial foam cells with distinctive immunomorphologic and histochemical features of macrophages. *American Journal of Pathology*, **100**, 57-70, 1980.
- [29] - Ho J.K., Brown, Goldstein J.L.: Hydrolysis and excretion of cytoplasmic cholesterol esters by macrophages. Stimulation by high density lipoprotein and other agents., *Journal of Lipid Research*, **21**, 391, 1980.
- [30] - Mahley R.W., Innerarity, T.L., Brown M.S., Ho J.K., Goldstein J.L.: Cholesteryl ester synthesis in macrophages. Stimulation by  $\beta$  - very low density lipoproteins from cholesterol-fed animals of several species. *Journal of Lipid Research*, **21**, 970-980, 1980.
- [31] - Basu S.K., Brown M.S., Ho J.K., Goldstein J.L.: Degradation of low density lipoprotein dextran sulfate complexes associated with deposition of cholesteryl esters in mouse macrophages. *The Journal of Biological Chemistry*, **254**, 7141-7146, 1979.

- [32] - Rosenfeld L.: Atherosclerosis and Cholesterol Connection: Evolution of a Clinical Application. *Chemical Chemistry*, **35**, 521-531, 1989.
- [33] - Cotran R.C., Munro J.M.: Pathogenesis of atherosclerosis: Recent Concepts 5-18, The Role of Cholesterol in Atherosclerosis: New Therapeutic Opportunities, edited by S.M. Grundy and A. G. Bearn, Hanley e Belfus, Inc. Philadelphia 1987.
- [34] - Marmot M.G. Booth M., Beral V.: International trends in heart disease mortality. *Atherosclerosis Reviews*, **9**, 19-27, 1982.
- [35] - Wilhelmsen L., Wedel H., Tibblin G.: Multivariate Analysis of risk factors for coronary heart disease. *Circulation*, **XLVIII**, 950-958, 1973.
- [36] - Gordon T., Castelli W.P., Hyortland, C.M., Kannel W.B., Drawber T.R.: Predicting Coronary Heart Disease in Middle- Aged and Older Persons. *The Framington Study*, *J.A.M.A*, **238**, 497-499, 1977.
- [37] - Curb J.D., Taylor A.A.: Mild hypertension and atherosclerosis. *Atherosclerosis Reviews*, **9**, 30-32 1982.
- [38] - Logan R.L., Riemersma R.A., Thomson M., Oliver M.F., Olsson A.G., Walldius G., Rossner S., Kaijser L., Callmer E., Carlson L.A., Lockerbie L., Lutz W.: Risk Factors for ischaemic Heart- Disease in normal men aged 40. *The Lancet I*, 949-954, 1978.
- [39] - Ueshima H. Tataru K., Asakura S.: Declining mortality from ischemic heart disease and changes in coronary risk factors in Japan, 1956-1980. *American Journal of Epidemiology*, **125**, 62-72, 1987.
- [40] - Cooper G.R., Myers G.L., Smith S. J., Sampson E.J.: Standardization of lipid, lipoprotein, and apolipoprotein measurements. *Clinical Chemistry*, **34**, 8 (B), 95-105, 1988.
- [41] - Grundy S.M.: Cholesterol and Coronary Heart Disease. *The Journal of American Medical Association*, **256**, 2849- 2858, 1986.
- [42] - Benfante R., Reed D.: Is elevated serum cholesterol level a risk factor for coronary heart disease in the elderly? *The Journal of the American Medical Association*, **19**, 393-396, 1990
- [43] - Kostner G.M.: Lipoprotein Lp (a): Facts and Mysteries. *European Lipoprotein Club "The First Ten Years"*, 105-107, 1987
- [44] - Ehnholm C., Huttunen J.K., Pietinen P., Leino U., Mutanen M., Kostianem E., Pikkariainen J., Dougherty R., Iacono J., Puska P.: Effect of Diet on serum lipoproteins in a Population with a high risk of coronary heart disease. *New England Journal of Medicine*, **307**, 850-855, 1982.
- [45] - Miller N.E., Miller G.J.: High-density lipoprotein and atherosclerosis. *The Lancet I*, 1033, 1975.
- [46] - Bainton D. Burns-Cox C.J., Elwood P.C., Lewis B., Miller N.E., Morgan K. Sweetnam P.W.: Prevalence of ischaemic heart disease and associations with

- serum lipoproteins in subjects aged 45 to 64 years. The Speedwell study. *British Heart Journal*, **47**, 483-489, 1982
- [47] - Thelle D.S., Shaper A.G., Whitehead T.P., Bullock D.G., Ashbry D., Patel I.: Blood lipids in middle-aged British men. *British Heart Journal*, **49**, 205-213, 1983
- [48] - Cooper G.R., Smith S.J., Wiebe D.A., Kuchamack M., Hannon W.H.: International Survey of apolipoprotein A1 and B measurements (1983-1984). *Clinical Chemistry*, **31**, 223-228, 1985.
- [49] - Miller N.E., Forde O.H., Thelle D.S., Mjos D.O.; The Tromso Heart-study, High-density lipoprotein and coronary heart-disease: A prospective case-control study. *The Lancet*, 965-977, 1977.
- [50] - Fraser G.E., Anderson J.T., Foster N., Goldberg R., Jacobs D., Blackburn H.: The effect of Alcohol on serum high density lipoprotein. *Atherosclerosis (HDL)*, **46**, 275-286, 1983.
- [51] - Salonen J.T., Puska P., Nissinen A.: Intake of spirits and beer and risk of myocardial infarction and death a longitudinal study in Eastern Finland. *J. Chron Dis*, **36**, 533-543, 1983.
- [52] - Barret-Connor E.L.: Obesity, Atherosclerosis and Coronary Artery Disease. *Annals of Internal Medicine*, **103**, 1010-1018, 1985.
- [53] - Okada M., Ueda K., Omae T., Takeshita M., Hirota Y.: The relationship of serum uric acid to hypertension and ischemic heart disease in Hisayama population, Japan. *J. Chron Dis*, **35**, 173-178, 1982.
- [54] - Haigh N.Z., Salz K.M., Chase G.A., Jenkins J.A., Bachorik P.S., Kwiterovich P.O.: The East Baltimore study: the relationship of lipids and lipoproteins to selected cardiovascular risk factors in an inner city Black adult population. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **38**, 320-326, 1983.
- [55] - Krauss R.M., Roy S., Mishell, Jr. D.R., Casagrande J., Pike M.C.: Effects of two low-dose oral contraceptives on serum lipids and lipoproteins: Differential changes in high-density lipoprotein subclasses. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **145**, 446-452, 1983.
- [56] - Woors A.W., Srinivasan S.R., Hunter S.M.D., Webber L.S., Skolv M.C., Berenson G.S.: Smoking, oral contraceptives and serum lipid and lipoprotein levels in youths. *Preventive Medicine*, **11**, 1-12, 1982.
- [57] - Thelle D.S., Arnesen E., Forde O.H.: The Tromso Heart Study - Does coffee raise serum cholesterol? *The New England Journal of Medicine*, **308**, 1454-1457, 1983.
- [58] - Maxwell V.B., Crump J.H., Thorp J.: The measurement of risk indicators for coronary Heart Disease in Air Traffic Control Officers: A screening Study in a healthy population. *Aviation, Space, and Environment Medicine*, **54**, 246-249, 1983.
- [59] - Lowe G.D.O., Machado S.G., Krol W.F. et al: White blood cell count and hematocrit as predictors of coronary recurrence after myocardial infarction:

*Thromb Haemost*, 54, 700-703, 1985 in: Ernst E., Hammerschmidt D.E., Bagge U., Matrai, A., Dormandy J. A. : Leukocytes and the risk of ischemic diseases. *The Journal of the American Medical Association*, **257**, 2318-2324, 1987.

- [60] - Beaglehole R., Jackson R.: Coronary heart disease morbidity, and risk factor trend in New Zealand. *Cardiology*, **72**, 29-34, 1985.
- [61] - Hardes G.R., Dóbson A.J. Lloyd D.M., Leeder S.R.: Coronary heart disease mortality trends and related factors in Australia, *Cardiology*, **72**, 23-28, 1985.
- [62] - Goldbourt U., Neufeld H. N.: Trends in coronary heart disease mortality and relate factors in Israel. *Cardiology*, **72**, 63-74, 1985.
- [63] - Menotti A., Capocaccia R., Farchi F., Pasquali M.: Recent trends in coronary heart disease and other cardiovascular disease in Italy. *Cardiology*, **72**, 88-96, 1985.
- [64] - Kornitzer M.: Evolution of coronary heart disease mortality from 1958 in Belgium. *Cardiology*, **72**, 59-62, 1985
- [65] - RywiK S., Kups' c' W.: Coronary heart disease mortality trends and related factors in Poland. *Cardiology*, **72**, 81-87, 1985
- [66] - Shaper A.G., Cook D.G., Walker M., Macfarlane P.W. Prevalence of ischaemic heart disease in middle aged British men. *British Heart Journal*, **51**, 595-605, 1984.
- [67] - Shepherd J., Betteridge D.J., Durrington P., Laker M., Lewis B., Mann J., Miller J.P., Reckless J.P., Thompson G.R.: Strategies for reducing coronary heart disease and desirable limits for blood lipid concentrations: guidelines of the British Hyperlipidaemia Association. *British Medical Journal*, **295**, 1245-1246, 1987.
- [68] - Study Group, European Atherosclerosis Society: Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. *European Heart Journal*, **8**, 77-88, 1987.
- [69] - Kuo T.P.: Hiperlipoproteinemia and Atherosclerosis: Dietary intervention. *The American Journal of Medicine*, 15-18, 1983.
- [70] - Rosenberg L., Palmer J.R., Shapiro S.: Decline in the risk of myocardial infarction among women who stop smoking. *The New England Journal of Medicine*, **322**, 213-217, 1990.
- [71] - Bartolin R., Bowvenot G., Arnaud C., Liardet P., Delboy C., Rolland M.: Fractions lípidiques sanguines et lipoproteines seriques chez l'ethylique chronique. *La Presse Medicale*, **12**, 903, 1983.
- [72] - Berenson G.S., Srinivasan S.R., Nicklas T.A., Weber L.S.: Cardiovascular risk factors in children and early prevention of heart disease. *Clinical Chemistry*, **34**, 8B, 115-122, 1988.

- [73] - Shaefer E. J. and Ordovas J. M.: Metabolism of Apolipoproteins A-I, A-II, e A-IV. *Methods in Enzimology*, **129**, 420-443,1986.
- [74] - Cheung M. C.: Charaterization of Apolipoprotein A-Containing Lipoproteins. *Methods in Enzimology*, **129**, 130-145,1986.
- [75] - Brewer Jr. H. B., Gregg R. E., Hoeg J., Law S.: The Structure and Function of the Human Plasma apolipoproteins and lipoproteins. Lipoproteins and coronary heart disease (*Proceedings of the Glasgow Heart Disease Symposium*,13-18 September 1984).
- [76] - Krause B.R., Sloop C.H., Castle C.K., Roheim P.S.: Mesenteric lymph apolipoproteins in control and ethinyl estradiol-treated rats: a model for studying apolipoproteins of intestinal origin. *Journal of Lipid Research*, **22**, 610-619, 1981.
- [77] - Green P.H.R., Glickman R.M., Saudek C.D., Blum C.B., Tall A.R.: Human Intestinal Lipoproteins. Studies in chyluric subjects. *Journal of Clinical Investigation*, **64**, 233-242,1979.
- [78] - Green P.H.R., Glickman R.M., Riley J. W., Quinet L.: Human apolipoprotein A-IV. Intestinal origin and distribution in plasma. *Journal of Clinical Investigation*, **65**, 911-919, 1980.
- [79] - Kane J. P.: Characterization of Apolipoprotein B-Containing Lipoproteins. *Methods in Enzymology*, **129**, 123- 129,1986.
- [80] - Fischer W. R., Schumaker V. N.: Isolation and Characterization of Apolipoprotein B-100. *Methods in Enzimology*, **128**, 247-262, 1986.
- [81] - Hardman D.A., Kane J. P.:Isolation and characterization of Apolipoprotein B-48. *Methods in Enzimology*, **128**, 262-272, 1986.
- [82] - Wu A.,Windmueller H.G.: Relative Contributions by liver and intestine to individual plasma apolipoproteins in the rat. *The Journal of Biological Chemistry*, **254**, 7316-7322, 1979.
- [83] - Shulman R.S., Herbert P.N.,Wehrly K., Fredrickson D.S.: The complete Amino acid Sequence of C-I (apo-Lp - Ser), an apolipoprotein from human very low density lipoproteins. *The Journal of Biological Chemistry*, **250**, 182-190, 1975.
- [84] - Blum C.B., Aron L., Sciacca R.: Radioimmunoassay studies of human apolipoprotein. *Journal of Clinical Investigation*, **66**, 12401250,1980.
- [85] - Havekes L.M., Knijff P., Beisiegel N., Havinga J., Smit M., Klasen E.: Notes on methodology - a rapid micrometod for apolipoprotein E phenotyping directly in serum. *Journal of Lipid Research*, **28**, 455- 463, 1987.
- [86] - Bachorik P.S., Kwiterovich Jr. P. O. : Apolipoprotein measurements in clinical biochemistry and their utility vis-a-vis convencional essays. *Chimica Acta*, **178**, 1-34,1988.
- [87] - Eisenberg S.: The VLDL to LDL Conversion Pathway: Regulation of the apo B 100 Cascade. *European Lipoprotein Club "The first ten years"*. 61-73, 1987.

- [88] - Brewer H.B., Shulman R., Herbert P., Ronan R., Wehrly K.: The complete amino acid sequence of alanine apolipoprotein (apo C-III), an apolipoprotein from human plasma very low density lipoproteins. *The Journal of Biological Chemistry*, **249**, 4975-4984, 1984.
- [89] - Alaupovic P.: Apolipoproteins and lipoproteins. *Atherosclerosis*, **13**, 1411-146, 1971.
- [90] - Cooper G: Interpreting lipid values in the laboratory, *Journal of Cardiology*, **56**, 21-22, 1986.
- [91] - Castelli W.P.: The triglyceride issue: A view from Framingham. *American Heart Journal*, **112**, 432-437, 1986.
- [92] - Grundy S.M., e col.: Treatment of Hypertriglyceridemia - Consensus Conference. *The Journal of the American Medical Association*, **251**, 1961200, 1984.
- [93] - Eisenberg S.: Lipoprotein abnormalities in hiper- triglyceridemia: significance in atherosclerosis. *American Heart Journal*, 555-561, 1987.
- [94] - Brunzell J.D., Austin M.A.: Plasma triglyceride levels and coronary disease. *New England Journal of Medicine*, 320(19), 1273-1274, 1989. In: Purcel H.: The triglyceride debate. *Cardiology in Practice*, 23-24, 1990.
- [95] - Hamsten A., Walldivs G., Dahlén G., Johansson B., De Faire U.: Serum lipoproteins and apolipoproteins in young male survivors of myocardial infarction. *Atherosclerosis*, **59**, 223-235, 1986.
- [96] - Lewis B., Wootton I.D.P., Krikler D.M., February A., Chait A., Oakley C.M., Sigurdsson G., Maurer B., Birkhead J.: Frequency of risk factors for ischaemic heart-disease in a healthy British population. *The Lancet I*, 141-146, 1974.
- [97] - Carlson L.A., Bottiger L.E.: Ischaemic heart-disease in relation to fasting values of plasma triglycerides and cholesterol. Stockholm Prospective Study. *The Lancet I*, 865-868, 1972.
- [98] - Hughes L.: Triglycerides and coronary heart disease - risk factor or not. *Cardiology in Practice*, 24-25, 1990.
- [99] - Lippel K., Tyroler H., Eder H., Gotto Jr. A., Vahouny G.: Relationship of hypertriglyceridemia to atherosclerosis. *Arteriosclerosis*, **1**, 406-417, 1981.
- [100] - Ueshima H., Kitada M., Iida M., Tonigaki M., Shimamoto T., Konishi M., Nagano E., Nakanishi N., Takayama Y., Ozawa H., Komachi Y.: Serum total cholesterol, triglyceride level, and dietary intake in Japanese students aged 15 years. *American Journal of Epidemiology*, **116**, 343-352, 1982.
- [101] - Friedlander Y., Cohen T., Stenhouse N., Davies A.M., Stein Y.: Familial aggregation of total cholesterol, triglyceride and high-density lipoprotein-cholesterol in an Israeli population sample. *Israel Journal of Medical Sciences*, **18**, 1137-1143, 1982.
- [102] - Kannel W.B.: Cholesterol and Risk of Coronary Heart Disease and Mortality in

Men. *Clinical Chemistry*, **34**, 8(B), 53-59, 1988.

- [103] - Shaper A.G.; Identification of Risk Factors for Coronary Heart Disease. Lipoproteins and Coronary Heart Disease. *Proceedings of the Glasgow Heart Disease Symposium*, 73- 83, 1984.
- [104] - Miller G.J., Beckles G.L.A., Maude G.H., Carson D.C., Alexis S.D., Prias S.G.L., Byam N.T.A.: Ethnicity and other characteristics predictive of coronary heart disease in developing community, principal results of the St. James survey. Trindade, *International Journal of Epidemiology*, **18**, 4, 808-815, 1989.
- [105] - Oliver M.: Dietary cholesterol, plasma cholesterol, and coronary heart disease. *British Heart Journal*, **38**, 214-218, 1976.
- [106] - Ueshima H., Iida M., Shimamoto T. Konishi M., Tanigaki M., Doi M., Kakanishi N., Takayama Y., Ozawa H., Komachi Y.: Dietary Intake and Serum Total Cholesterol Level: Their relationship to different lifestyles in several Japanese populations. *Circulation*, **66**, 519- 525, 1982.
- [107] - Kesteloot H., Lee C.S., Park H.M., Kegels C., Geboers J., Cloes J. H., Joossens J.V.: A Comparative Study of Serum Lipids Between Belgium and Korea. *Circulation*, **65**, 795-799, 1982.
- [108] - Cresanta J.L., Srinivasan S.R., Foster T.A., Webber L.S., Berenson G.S.: Serum lipoprotein levels in children: epidemiologic and clinical implications. *J. Chron Dis*, **35**, 41-51, 1982.
- [109] - Glueck C.J., Laskarzewski P.M., Suchindran C.M., Chambless L.E., Barret-Connor E., Stewart P., Heiss G., Tyroler H.A.: Progeny's lipid and lipoprotein levels by parental mortality. The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. *Circulation*, **73** (suppl I), 51-61, 1986.
- [110] - Feinleib M., Thom T., Havlik R.: Decline in Coronary Heart Disease Mortality in the United States. *Atherosclerosis Reviews*, **9**, 29-44, 1982.
- [111] - Stallones R.A.: Mortality Due to Ischemic Heart Disease: Observation and Explanations. *Atherosclerosis Reviews*, **9**, 43-51, 1982.
- [112] - Packard C.J., Shepherd J.: The Pathophysiology of cholesterol Metabolism in Man. *Klinische Wochenschrift*, **63**, 1-8, 1985.
- [113] - Bush T.L., Fried L.P., Barret-Connor E.: Cholesterol, Lipoproteins, and Coronary Heart Disease in Women. *Clinical Chemistry*, **34**, 8 (B), 1988.
- [114] - Neugut A.I., Fink D.J., Radin D.: Serum cholesterol and primary brain tumours. A case control study. *International Journal of Epidemiology*, **18**, 4, 798-801, 1989.
- [115] - Allen S.R., Erban S.B.: Menopause and coronary risk factor. *The New England Journal of Medicine*, **8**, 698-699, 1990.
- [116] - Abell L.L., Levy B.B., Brodie B.B., Kendall F.E.: Simplified method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity. *Journal Biological Chemistry*, **195**, 357-366, 1952.

- [117] - Smith W.C.S., Kenicer M.B., Davis A.M., Evans A.E., Yarnell J.: Blood cholesterol: is population screening warranted in the U.K.: *The Lancet* **1**, 372-373, 1989.
- [118] - Tell G.S., Mittelmark M.B., Vellar O.D.: Cholesterol, high density lipoprotein cholesterol and triglycerides during puberty: The Oslo Youth Study. *American Journal of Epidemiology*, **122**, 750-761, 1985.
- [119] - Muhailan A.R.A., Ramadan L., Giorgov A.N., Moussa M. Exercise time relationship to coronary risk factors in Kuwaiti adult males 1985-1986. *Internacional Journal of Epidemiology*, **18**, 4, 818-823, 1989.
- [120] - Rifkin R.D.: Hypercholesterolemia: Whom and how to treat. *The New England Journal of Medicine*, **8**, 696-697, 1990.
- [121] - Slater H.R., McKinney J., Packard C.J., Sheperd J.: Contribution of the receptor pathway to low density lipoprotein catabolism in humans. New methods for quantitation. *Arteriosclerosis*, **4**, 604- 613, 1984.
- [122] - Brown M.S., Goldstein J.L.: A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*, **22**, 34-47, 1986.
- [123] - Brown M.S., Goldstein J.L.: Plasma lipoproteins. Teaching old dogmas new tricks, *Nature*, **330**, 113-114, 1987.
- [124] - Rudel L.L., Parks J.S., Jonhson F.L., Babiak J.: Low density lipoproteins in atherosclerosis. *Journal of Lipid Research*, **27**, 465-474, 1986.
- [125] - Bilheimer D.W., Watanabe Y., Kita T.: Impaired receptor-mediated catabolism of low density lipoprotein in the WHHL rabbit, an animal model of familial hypercholesterolemia. *Pro. Natl. Acad. Sci.*, **79**, 3305-3309, 1982.
- [126] - Steinberg D., Parthasarathy S., Carew T. E., Khoo J.C., Witztum J.L: Beyond Cholesterol. Modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. *The New England Journal of Medicine*, **320**, 915-924, 1989.
- [127] - Tyroler H.A.: Cholesterol and cardiovascular disease. An overview of Lipid Research Clinics (LCR) epidemiologics studies as background for the LRC Coronary Primary Prevention Trial. *The American Journal of Cardiology*, **54**, 14C-19C, 1984.
- [128] - Packard C.J., Munro A., Lorimer A.R., Gotto A.M., Sepherd J.: Metabolism of apolipoprotein B in large triglyceride-rich very low density lipoproteins of normal and hypertriglyceridemia subjects. *J. Clin. Invest.*, **74**, 2178-2193, 1984 *in* Rudel L.L, Parks J.S., Johnson F.L., Babiak J.: Low density lipoproteins in atherosclerosis. *Journal of Lipid Research*, **27**, 465-474, 1986.
- [129] - Austin M.A., Breslow J.L., Hennekens C. H., Buring J. E., Willett W.C., Krauss R.M.: Low-density lipoprotein subclass. Patterns and risk of myocardial infaction. *The Journal of the American Medical Association*. **260**, 1917-1921, 1988.

- [130] - McNamara J.R., Campos H., Ordovas J.M., Peterson J., Wilson P.W.F., Schaefer E.J.: Effect of gender, age, and lipid status on low density lipoprotein subfraction distribution. *Arteriosclerosis*, **7**, 483-490, 1987.
- [131] - Shepherd J., Bicker S., Lorimer A.R., Packard C.J.: Receptor-mediated low density lipoprotein catabolism in man. *Journal of Lipid Research*, **20**, 999-1006, 1979.
- [132] - Carew T.E., Koschinsky T., Hayes S. B., Steinberg D.: A mechanism by which high-density lipoproteins may slow the atherogenic process. *The Lancet I*, 1315-1317, 1976.
- [133] - Albers J.J., Cheung M.C., Hazzard W.R.: High-density lipoproteins in myocardial infarction survivors. *Metabolism*, **27**, 479-485, 1978.
- [134] - Albers J.J., Warnick G.R., Cheng M.C.: Quantitation of high density lipoproteins. *Lipids*, **13**, 926-932, 1978.
- [135] - Tall A.R., M.B., B.S., Small D.M.: Current Concepts. Plasma high-density lipoproteins. *The New England Journal of Medicine*, **299**, 1232-1236, 1978.
- [136] - Miller N.E.: The evidence for the antiatherogenicity of high density lipoprotein in man. *Lipids*, **13**, 914-919, 1978.
- [137] - Ueshima H., Lida M., Shimamoto T., Konishi M., Tanigaki M., Nakanishi N., Takayama Y., Ozawa H., Kojima S., Komachi J.: High-density lipoprotein-cholesterol levels in Japan. *Journal of the American Medical Association*, **247**, 1985-1987, 1982.
- [138] - Mahley R.W., Innerarity T.J., Bersot T.P., Lipson A., Margolis S.: Alterations in human high-density lipoproteins, with or without increased plasma cholesterol, induced by diet high in cholesterol. *The Lancet I*, 807-809, 1978.
- [139] - Miller N.E., Rao S., Lewis B., Bjorsvik G., Myhre K., Mjos O.D.: High density lipoprotein and physical activity. *The Lancet I*, 111, 1979.
- [140] - Miller N.E.: High density lipoprotein cholesterol, reverse cholesterol transport, and atherosclerosis: from hypothesis to prevention of coronary heart disease, 1-4. High-density lipoprotein and atherosclerosis II edited by Norman E. Miller: (Amsterdam: Elsevier Science Publishers [Biomedical Division], 1989).
- [141] - Oram J.F., Slotte J.P., Aviram M., Duell P.B., Graham D.L., Bierman E.L.: High-density receptor-mediated transport of excess cholesterol from cells, 5-13. High density lipoproteins and atherosclerosis II edited by Norman E. Miller: (Amsterdam: Elsevier Science Publishers [Biomedical Division], 1989).
- [142] - Gordon D.J.: High-density lipoprotein and coronary heart disease: A comparison of recent epidemiologic and clinical trial results, 37-45, High-density lipoprotein and atherosclerosis II edited by Norman E. Miller: (Amsterdam: Elsevier Science Publishers [Biomedical Division], 1989).
- [143] - Assmann G., Schulte H., Funke H., Von Eckardtstein A., Seedorf U.: The Prospective Cardiovascular Munster (Procam) Study: Identification of high risk individuals for myocardial infarction and the role of high-density

- lipoprotein, 49-59, high-density lipoprotein and atherosclerosis II, edited by Norman E. Miller: (Amsterdam: *Elsevier Science Publishers* [Biomedical Division], 1989).
- [144] - Shepherd J., Packard C.J., Patsch J.R., Morgan G., Gotto Jr. A.M.: Apoprotein exchange between human high-density lipoprotein subfractions (high-density-lipoprotein subfractions 2 and 3), 106- 108, 572nd Meeting. London. *Biochemical Society Transactions*, 1978.
- [145] - Berg A., Keul J.: Influence of maximum aerobic capacity and relative body weight on the lipoprotein profile in athletes. *Atherosclerosis*, **55**, 225-231, 1985.
- [146] - Brewer H.B., Gregg R.E., Hoeg J.M., Fojo S.S.: Apolipoprotein and lipoproteins in Human Plasma: an overview. *Clinical Chemistry*, **34**, 8(B), 4-8, 1988.
- [147] - Shepherd J., Packard C.J.: Lipoprotein Metabolism, 55-77. *Clinical Biochemistry Principles. Methods. Applications. Human Plasma Lipoproteins* Editions: J.C. Fruchart, J. Shepherd., 1990.
- [148] - Simons J.A., Friedlander Y., Simons J., Kark J.D.: Familial aggregation of coronary heart disease: partial mediation by high density lipoproteins? *Atherosclerosis*, **69**, 139-144, 1988.
- [149] - Lipinska I., Gurewich V.: The value of measuring percent high density lipoprotein in assessing risk of cardiovascular disease. *Archives of Internal Medicine*, **142**, 469-472, 1982.
- [150] - Alaupovic P; McConathy W.J.; Fresmire J.D.: "Apolipoprotein Profiles of Dyslipoproteinemic states" 27-40 *Proceeding of the workshop on Apolipoprotein. Quantification U.S. Department of Health and Human Services* September, 21 and 22, 1982
- [151] - Pitas R.E.; Innerarity T.L.; Mahley R.W.: Cell surface receptor binding of phospholipid. Protein complexes containing different ratios of receptor-active and inactive E apoprotein. *The Journal of Biological Chemistry*, **225**, 5454-5456, 1980
- [152] - Malmendier C.L.: Les apoprotéines vont-elles détrôner les lipides dans l'investigation de l'etiologie de l'athérosclérose et d'autres pathologies? *Bulletin et Memoires de L'Académie Royale de Médecine de Belgique*, **138**, 215-224, 1983
- [153] - Avogaro P.; Bong G. B.; Cazzolato G.; Quinci G.B.: Are apolipoproteins better discriminators than lipids for atherosclerosis ?". *The Lancet* **I**, 901-903, 1979
- [154] - Heiss G.; Tyroler H.A.: Are apolipoproteins useful for evaluating ischemic heart disease? A brief overview of the literature -7-22 *Proceedings of the workshop on apolipoprotein quantification U.S. Department of Health and Human Services*, September, 21 and 22, 1982.
- [155] - Nearly R.H.; Gowland E.: Stability of free apolipoprotein A-I concentration in serum, and its measurement in normal and hyperlipidemic subjects. *Clinical Chemistry*, **33**, 1163-1169, 1987

- [156] - Duchois P.; Kandoussi A.; Fievet P.; Fourrier J.L.; Bertrand M.; Koren E.; Fruchart J.C.: Apolipoprotein A-I containing lipoproteins in coronary artery disease. *Atherosclerosis*, **68**, 35-40, 1987
- [157] - Steinberg K.K.; Cooper G.R.; Graiser S.R.; Rosseneu M.: Some considerations of methodology and standardization of apolipoprotein A-I immuno assays. *Chemical Chemistry*, **29**, 415-426, 1983
- [158] - Shepherd J., Packard C.J., Gotlo Jr. A.M., Taunton O.D.: A comparison of two methods to investigate the metabolism of human apolipoproteins A-I and A-II. *Journal of lipid Research*, **19**, 655- 661, 1978.
- [159] - Koren E.; Puchois P.; Alaupovic P; Fresmire J.; Kandoussi A.; Fruchart J.C.: "Quantification of two different types of apolipoprotein A-I containing lipoprotein particles in plasma by Enzyme-linked differential-antibody immunosorbent assay" *Clinical Chemistry*, **33**, 38-43, 1987
- [160] - Nestel P., Ringrose H.; Taylor R.; Zimmet P.; Sloman G.: "High density lipoprotein apoprotein variability in a Biracial Population" *Arteriosclerosis*, **3**, 131-137, 1983
- [161] - Schonfeld G., Lees R.S., George P.K., Pflieger B: Assay of total plasma apolipoprotein B. Concentration in human subjects. *The Journal of Clinical Investigation*, **53**, 1458-1467, 1974;
- [162] - Rosseneu M., Vercaemst R., Steinberg K.K., Cooper G.R.: Some considerations of methodology and standardization of apolipoprotein B immunoassays. *Clinical Chemistry*, **29**, 427-433, 1983.
- [163] - Inneraty T.L., Young S.G., Poksay K.S., Mahley R.W., Smith R.S., Milne R.W., Marcel Y.L., Weisgraber K.H.: Structural relationship of human apolipoprotein B<sub>48</sub> to apolipoprotein B<sub>100</sub>. *Journal Clinical Investigation*, **80**, 1794-1798, 1987.
- [164] - Shepherd J., Packard C.J.: Apolipoprotein B metabolism in man. *Acta Med. Scand*, Suppl. **715**, 61-66, 1987.
- [165] - Allan Gaw: Comunicação directa. Royal Inferinary Glasgow, Janeiro 1990.
- [166] - Demant Th., Shepherd J., Packard C.J.: Very low density lipoprotein apolipoprotein B metabolism in humans. *Klinische Wochenschrift*, **66**, 703-712, 1988.
- [167] - Packard C.J., Shepherd J., Joerns S., Gotto A.M., Taunton O.D.: Apolipoprotein B metabolism in normal, type IV, and type V hyperlipoproteinemic subjects. *Metabolism*, **29**, 213-222, 1980.
- [168] - James R.W., Martin B., Pometta D., Fruchart J.C., Duriez P., Puchois P., Farriaux J.P., Tacquet A., Demant T., Clegg R. J., Monro A., Oliver M.F., Packard C.J., Shepherd J.: Apolipoprotein B metabolism in homozygous familial hypercholesterolemia, *Journal of Lipid Research*, **30**, 159-169, 1989.

- [169] - Demant T., Houlston R.S., Caslake M.J., Series J.J., Shepherd J., Packard C.J., Humphries S.E.: Catabolic rate of low density lipoprotein is influenced by variation in the apolipoprotein B gene, *J. Clin. Invest*, **82**, 797-802, 1988.
- [170] - Brewer Jr. H.B., Gregg R.E., Hoeg J.M., Fojo S.S.: Apolipoproteins and lipoproteins in human plasma: an overview. *Clinical Chemistry*, **34(B)**, 4-8, 1988.
- [171] - Shaefer E.J.: Disorders of lipoprotein metabolism associated with apolipoprotein deficiencies. *Proceeding of the workshop on apolipoprotein quantification*, 54-61, U.S. Department of Health and Human Services, September, 21 and 22, 1982.
- [172] - Shaefer E.J., McNamara J.R., Genest J., and Ordovas J.M.: Genetics and abnormalities in metabolism of lipoproteins. *Clinical Chemistry*, **34(B)**, 9-12, 1988.
- [173] - Alaupovic P., McConathy W.J., Fresmire J., Tavella M, and Bard J.M.: Profiles of apolipoprotein and apolipoprotein B - containing lipoprotein particles in dyslipoproteinemias. *Clinical Chemistry*, **34(B)**, 13-27, 1988.
- [174] - Slylling H., Miettinen T.A.: Absorption and metabolism of cholesterol in familial hypercholesterolemia. *Clinical Science* **76**, 297-301, 1989
- [175] - Infante R.: Apolipoprotein-B deficiency syndromes. *European Lipoprotein Club "The first ten years"*, 97-104, 1987.
- [176] - Kwiterovich Jr. P.O. , Sniderman A.D.: Clinical and biochemical characteristics of dyslipoproteinemias associated with an excess of apoprotein B or A-I. 71-92 *Proceeding of the workshop on apolipoprotein quantification*, September, 21 and 22, 1982.
- [177] - Shepherd J., Packard C.J.: The pathogenesis of hiperlipoproteinaemia. *Scottish Medical Journal*, **31**, 154-161, 1986.
- [178] - Quadro da "Duncan, Flockhart & Co., Limited" (Lipid concern), (adapted from Tietz, Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders. 1987).
- [179] - Krupp M.A., Chatton M.J.: Current Medical Diagnosis and Treatment. *Lenge Medical Publications*. Cap. 19, 782, 1979.
- [180] - Douste-Blazy, Kloer H.U.: Hyperlipoproteinemia and coronary heart disease, 379-389, Human Plasma Lipoproteins. Clinical Biochemistry. Principles. Methodos, Applications. Edited by J.C. Fruchart, J.S. Shepherd.Gruyter.1990
- [181] - Young S.G., Hubl S.T., Smith R.S., Snyder S.M., Terdiman J.F.: Familial Hypobetalipoproteinemia caused by a mutation in the apolipoprotein B gene that results in a truncated species of apolipoprotein B (B-31). *Journal of Clinic Investigations*, **85**, 933- 942, 1990.
- [182] - Schaefer E.J., McNamara J.R., Genest, Jr. J., Ordovas J.M.: Genetic high-density lipoprotein deficiency, 29-35. Official Proceeding of the Symposium High density lipoproteins and atherosclerosis II, edited by N.E. Miller (Amsterdam Elsevier Science Publishers) [Biomedical Division], 1989.

- [183] - Kwiterovich, Jr. P.O.: Hyperapo B: a pleiotropic phenotype characterized by dense low density lipoprotein and associated with coronary artery disease, *Clinical Chemistry*, 34(B), 71-77, 1988.
- [184] - Miller G.J., Miller N.E.: Plasma-high-density-lipoprotein concentrations and development of ischaemic heart disease. *The Lancet I*, 16-19, 1975.
- [185] - Garret J., Osswald W: Hiperlipoproteinemias 713-724. *Terapêutica Médica e as suas Bases Farmacológicas I*, 1987.
- [186] - Nestel P.J.: Diet and hyperlipidemia - current questions and controversies 309-333. *Clinical Biochemistry Principles. Methods. Applications. Human PLasma Lipoproteins*, edited by J.C. Fruchart and J.S. Shepherd, 1990.
- [187] - Guyton J.R., Gotto Jr. A.M.: Drug therapy of dyslipoproteinemias, 351-361 *Clinical Biochemistry Principles. Methods. Applications. Human Plasma Lipoproteins*, edited by J.C. Fruchart and J.S. Shepherd, 30, 1990.
- [188] - Quadro de Shepherd J., Packard C.J.. Produced by Minerva Medical Projects Ltd. Distributed through Farmitalia Carlo Erba Ltd. Manufactures of Olbetam (acipamox) 1988.
- [189] - Bilheimer D.W., Grundy S.M., Brown M.S., Goldstein J.L.: Mevinolin and colestipol stimulate receptor-mediated clearance of low density lipoprotein from plasma in familial hypercholesterolemia heterozygotes. *Proc. Natl. Acad. Sci.: U.S.A.*, 80, 4124-4128, 1983.
- [190] - Hunninghatke D.B. e col. (The Lovastatin study group II). Therapeutic response to Lovastatin (Mevinolin) in nonfamilial hypercholesterolemia. A multicenter study. *Journal of American Medical Association*, 256, nº.20, 2829-2834, 1986.
- [191] - Ballantyne C.M., Payton-Ross J.C., Patsch W., Short III H.D., Noon G.P., Gotto Jr. A.M., DeBakey M.E., Young J.B.: Hyperlipidemia following heart transplantation:natural history and intervention With mevinolin (Lovastatin) Transplantation .*Proceeding, XIX*, nº.4, 60- 62, 1987.
- [192] - Moncloa F.: Worldwide clinical experiance with Lovatatin/ simvastatin, 55-64. *The Role of Cholesterol in Atherosclerosis. New Therapeutic Opportunities*, edited by S.M. Grundy and A.G. Bearn, Hanley & Beljus. Inc. Philadelphia, 1987.
- [193] - Illingworth D.R.: Drug therapy of hipercholesterolemia. *Clinical Chemistry*, 34, 8(B), 123-132, 1988.
- [194] - Frantz I.D.: Cardiovascular risk-what shoud be measured. *Mayo Clin. Proc.*, 61, 396-398, 1986.
- [195] - Burstein M., Samaille J.: Sur un dosage rapide du cholesterol lié aux a et aux b-lipoproteines du serum. *Clin. Chim. Acta*, 5, 609, 1960.
- [196] - Naito H. K.: Reability of lipid, lipoprotein, and apolipoprotein measurements. *Clinical Chemistry*, 34, 8(B), 1988.

- [197] - Warnik G.R., Albers J.J., Bachorik P.S., Turner J.D., Garcia C., Breckinridge C., Kuba K., McNeely S., Hillerman G., King P., Muesing R., Mort B., Lippel K.: Multilaboratory evaluation of an ultrafiltration procedure for high density lipoprotein cholesterol quantification in turbid heparin-manganase supernates. *Journal of Lipid Research*, **22**, 1015-1020, 1981.
- [198] - Wilcox H.G., Davis D.C., Heimberg M.: The isolation of lipoproteins from human plasma by ultracentrifugation in zonal rotors. *Journal of Lipid Research*, **21**, 160-172, 1971.
- [199] - Patsch J.R., Sailer S., Kostner G., Sandholer F., Holasek A., Braunsteiner H.: Separation of the main lipoprotein density classes from human plasma by rate-zonal ultracentrifugation. *Journal of Lipid Research*, **15**, 356-366, 1974.
- [200] - Patsch W., Schonfeld G., Gotto A.M., Patsch J.R.: Characterization of human high density lipoproteins by zonal ultracentrifugation. *The Journal of Biological Chemistry*, **255**, 3178-3185, 1980.
- [201] - Hatch F.T., Lingren F.T., Adamson G.L., Jensen L.C., Wong A.W., Levy R.I.: Quantitative agarose gel electrophoresis of plasma lipoproteins: a simple technique and two methods for standardization. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **81**, 946-960, 1973.
- [202] - Lingren F.T., Adamson G.L., Jensen L.C., Lipids and lipoprotein measurements in a normal adult american population. *Lipids*, **10**, 750-756, 1975.
- [203] - Wong R.A., Banchemo P.G., Jensen L.C., Pan S.S., Adamson G.L., Lindgren F.T.: Automated microdensitometry and quantification of lipoproteins by agarose gel electrophoresis. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **89**, 1341-1348, 1977.
- [204] - Lingren F.T., Jutagir R., Layshot L., Bradley D.D.: A comparison of simplified methods for lipoprotein quantification using the analytic ultracentrifuge as a standard: *Lipids*, **12**, 278-282, 1977.
- [205] - Cooper G.R., Smith S.J., Wiebe D.A., Kuchmak M., Hannon W.H.: International survey of apolipoproteins A and B measurements (1983-1984). *Clinical Chemistry*, **312**, 223-228, 1985.
- [206] - Roheim P.S., Thomson J.J.: Electroimmunoassay for Apolipoproteins 268-275. *Proceeding of the Worksshop on Apolipoprotein Quantification U.S. Department of Health and Human Services. September, 21 and 22, 1982.*
- [207] - Goldberg R.B.: Effect of antibody and apoprotein variability on the absolute apoprotein values obtained by immunoassay, 354-359 *Proceeding of the Worksshop on Apolipoprotein Quantification U.S. Department of Health and Human Services. September, 21 and 22, 1982.*
- [208] - Shonfeld G.: The effect of antibody specification on the quantitation of apo B concentrations in plasma 362-370. *Proceeding of the Worksshop on Apolipoprotein Quantification U.S. Department of Health and Human Services. September, 21 and 22, 1982.*

- [209] - Albers J.J., Cheung M.C.: Immunoassay of apolipoprotein A-I and A-II: Effect of different polyclonal antisera 349-353. *Proceeding of the Workshop on Apolipoprotein Quantification U.S. Department of Health and Human Services*. September, 21 and 22, 1982.
- [210] - Bedford D.K., Shepherd J., Morgan H.G.: Radioimmunoassay for human plasma apolipoprotein. *B. Clinica Chimica Acta*, **70**, 267- 276, 1976.
- [211] - Curry M.D., Alaupovic P., Suenram C.A.: Determination of apolipoprotein A and its constitutive A-I and A-II polipeptides by separate electroimmunoassays. *Clinical Chemistry*, **22**, 315- 321, 1976.
- [212] - Albers J.L., Cheung M.C., Wahl P.W.: Effect of storage on the measurement of apolipoproteins A-I and A-II by radial immunodiffusion. *Journal of Lipid Research*, **21**, 874-878, 1980.
- [213] - Fresmire J.D.: Effect of freezing and storage on apolipoprotein levels in human whole serum, 283-287 *Proceeding of the Workshop on Apolipoprotein Quantification U.S. Department of Health and Human Services*. September, 21 and 22, 1982.
- [214] - Wang X.L., Dudman N.P.B., Blades B.L., Wilcken D.E.L.: Changes in the immunoreactivity of apo A-I during storage. *Clinica Chimica Acta*, **179**, 285-294, 1989.
- [215] - Miller J.P., Mao S.J.T., Patsch J.R., Gotto Jr.A.M.: The measurement of apolipoprotein A-I in the human plasma by electroimmunoassay. *Journal of Lipid Reseach*, **21**, 775-780, 1980.
- [216] - Mann J.L., Lewis B., Shepherd J., Winder A.F., Fenster S., Rose L., Morgan B.: Blood lipid concentrations and other cardiovascular risk factors: distribution, prevalence, and detection in Britain: *British Medical Journal*, **296**, 1702 - 1706, 1988.
- [217] - Bachorik P.S., Walker R., Brownel K.D., Stunkard A.J., Kwiterovich P.O.: Determination of high density lypoprotein-cholesterol in stored human plasma. *Journal of Lipid Research*, **21**, 608-616.