



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO

**METABOLISMO DE QUILOMÍCRONS EM PACIENTES
PORTADORES DE DOENÇA ARTERIAL CORONÁRIA**

LAURA INÊS VENTURA BRANDIZZI

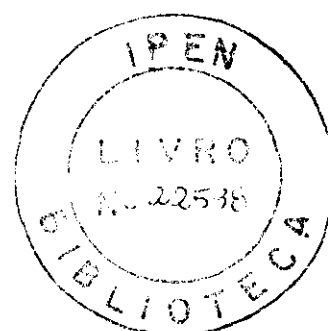
Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau
de Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear - Aplicações.

Orientador:
Prof. Dr. Carlos Henrique de Mesquita

São Paulo
2002

**METABOLISMO DE QUILOMÍCRONS EM PACIENTES
PORTADORES DE DOENÇA ARTERIAL CORONÁRIA**

LAURA INÊS VENTURA BRANDIZZI



**Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau
de Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear - Aplicações.**

**Orientador:
Prof. Dr. Carlos Henrique de Mesquita**

**São Paulo
2002**

*Aos meus queridos pais,
Rubens (em memória) e Antonia
pelo Amor, pelo Carinho e Dedicação
desde meus primeiros passos.*

*Às minhas filhas,
Bruna e Bianca, grandes amigas,
por toda paciência, dedico este trabalho e
desejo que tenham a mesma determinação,
vontade e sabedoria para superar todas os desafios.*

*Ao Aleu,
companheiro e amigo, sempre presente em todas as horas,
pelo apoio, carinho e incentivo, ingredientes fundamentais para o
cumprimento de mais esta etapa de meu desenvolvimento profissional.
E, principalmente, por ter me mostrado através do amor
o valor da pequenas coisas.*

*À minha irmã Solange , ao meu cunhado Antonio Roberto
e aos meus sobrinhos por compartilharem
momentos preciosos ao longo desta jornada.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Carlos Henrique de Mesquita pela orientação deste trabalho, apoio e amizade.

Ao Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão, co-orientador, pelo incentivo ao meu desenvolvimento científico, sinalizando um caminho profissional a seguir.

Ao Prof. Dr. Protásio Lemos da Luz , pelo estímulo e sugestões.

Ao Dr. Whady Hueb, pela inestimável colaboração na seleção dos pacientes e pelos preciosos ensinamentos clínicos.

À Divisão de Ensino da Pós Graduação do Instituto Enérgico de Pesquisas Nucleares (IPEN), em nome do presidente Prof. Dr. José Roberto Rogero e o Sr. Fernando Moreira , os meus agradecimentos.

À Dra. Carmen G.C. Vinagre, do Setor de Lípidos do Laboratório de Pesquisa do INCOR, pelas sugestões, profissionalismo, incentivo e amizade.

À farmacêutica Vanda Yoshida pelo companheirismo, determinação e confecção final deste trabalho.

Aos colegas do Setor de Lípidos do Laboratório de Pesquisa do InCor pelo cooperativismo e amizade.

À enfermeira Marisa Góes por todas as palavras de carinho e compreensão.

À Dra. Luciana Uint pelo incentivo e amizade.

As amigas Sílvia Furtado e Celeste Menezes pela ajuda e paciência na confecção deste trabalho.

À amiga Jane Greyce da N. Tavares pela amizade e incentivo.

À Mônica Damiana Schneider de Pauli pelo apoio técnico e amizade.

À Ana Maria Campinas P. Benassi e Vera Lúcia Mariano Garcia da secretaria da Pós Graduação do IPEN pelas valiosas informações e colaboração.

Aos pacientes do ambulatório do grupo de Coronária do InCor, meus agradecimentos, pois graças a eles este trabalho pode ser concretizado.

Enfim, um agradecimento especial a todos os meus amigos não apenas pela realização desta etapa do meu desenvolvimento profissional mas principalmente pela riqueza de todos os momentos que temos compartilhado ao longo da vida.

METABOLISMO DE QUILOMÍCRONS EM PACIENTES PORTADORES DE DOENÇA ARTERIAL CORONÁRIA

LAURA INÊS VENTURA BRANDIZZI

RESUMO

Os quilomícrons são lipoproteínas ricas em triglicérides, que transportam os lípidos da dieta absorvidos no intestino. Na circulação, os triglicérides dos quilomícrons são hidrolisados pela lipase de lipoproteína, usando a apolipoproteína (apo) CII como co-fator. Os ácidos graxos livres e o glicerol resultantes da ação enzimática são absorvidos e armazenados nos tecidos corpóreos, principalmente o músculo e o tecido adiposo, para utilização subsequente como fonte energética. Os remanescentes resultantes da lipólise são captados por receptores hepáticos como os receptores da LDL, usando principalmente a apo E como elemento ligante. Por razões metodológicas, o metabolismo dos quilomícrons não tem sido estudados com muita frequência em seres humanos, apesar de sua importância fisiopatológica. Assim, esse metabolismo não foi avaliado nos grandes estudos epidemiológicos que estabeleceram a relação entre os lípidos e a aterogênese. Em estudo os quais foram usados os testes de sobrecarga de gordura, foi demonstrado que em pacientes com doença arterial coronária há uma tendência à acumulação pós-prandial de triglicérides, vitamina A e apo B-48, sugerindo que nesses pacientes ocorre remoção lenta de quilomícrons e seus remanescentes.

Uma emulsão rica em triglicérides, marcada radioisotopicamente, que mimetiza o metabolismo dos quilomícrons quando injetada na corrente circulatória, pode constituir-se em instrumento metodológico para avaliar os quilomícrons.

Nos pacientes com doença arterial coronária, tanto a lipólise como a remoção plasmática dos remanescentes da emulsão mostraram-se diminuídos quando comparados com indivíduos sem a doença. Desta maneira, a introdução de técnicas utilizando-se marcações com radioisótopos mais práticas e diretas, pode se levar à descoberta de novos mecanismos da aterogênese.

CHYLOMICRONS METABOLISM IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE

LAURA INÊS VENTURA BRANDIZZI

ABSTRACT

Chylomicrons are the triglyceride-rich lipoproteins that carry dietary lipids absorbed in the intestine. In the bloodstream, chylomicron triglycerides are broken-down by lipoprotein lipase using apolipoprotein (apo) CII as co factor. Fatty acids and glycerol resulting from the enzymatic action are absorbed and stored in the body tissues mainly adipose and muscle for subsequent utilization as energy source. The resulting triglyceride-depleted remnants are taken-up by liver receptor such as the LDL receptor using mainly apo E as ligand. For methodological reasons, chylomicron metabolism has been unfrequently studied in subjects despite its pathophysiological importance, and this metabolism was not evaluated in the great clinical trials that established the link between atherosclerosis and lipids. In studies using oral fat load tests, it has been shown that in patients with coronary artery disease there is a trend to accumulation of post-prandial triglycerides, vitamin A or apo B-48, suggesting that in those patients chylomicrons and their remnants are slowly removed from the circulation.

A triglyceride-rich emulsion marked with radiolabeled lipids which mimics chylomicron metabolism when injected into the bloodstream has been described that can offer a more straightforward approach to evaluate chylomicrons. In coronary artery disease patients both lipolysis and remnant removal from the plasma of the chylomicron-like emulsions were found slowed-down compared with control subjects without the disease. The introduction of more practical techniques to assess chylomicron metabolism may be new mechanisms underlying atherogenesis.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	01
1.1 Doença Arterial Coronária (DAC).....	01
1.1.1 Epidemiologia.....	02
1.1.2 Aterosclerose e Doença Arterial Coronária.....	03
1.1.2.1 Fisiopatologia da Aterosclerose Coronária.....	04
1.1.2.2 Mecanismo da Aterogênese.....	11
1.1.3 Fatores de Risco: Ponto de Partida para Prevenção da DAC	12
1.1.3.1 Fatores de Risco Não-Modificáveis	13
1.1.3.2 Fatores de Risco Modificáveis	14
1.1.3.3 Fatores de Risco Parcialmente Modificáveis	17
1.2 Lipoproteínas Plasmáticas	17
1.2.1 Transporte de Lípides na Circulação Sangüínea	19
1.2.1.1 Transporte Endógeno	19
1.2.1.2 Transporte Exógeno	24
1.2.1.3 Captação dos Remanescentes de Quilomícrom	26
1.3 Metodologia para Avaliar a Cinética do Quilomícrom	29
2. OBJETIVOS	34
3. CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1 Casuística	35

3.2 Material	37
3.2.1 Material Utilizado no Preparo da Emulsão Lipídica Artificial	37
3.2.2 Materiais Utilizados nos Estudos	37
3.2.3 Materiais Utilizados nas Dosagens Bioquímicas	38
3.3 Métodos	38
3.3.1 Cinecoronariografia	38
3.3.2 Preparo de Emulsão	39
3.3.3 Protocolo Experimental	40
3.3.3.1 Determinação do Perfil Lipídico	40
3.3.3.2 Estudos Cinéticos	40
3.3.3.3 Análise dos Dados Cinéticos	42
3.3.3.4 Análise Estatística	43
4. RESULTADOS	44
4.1 Perfil Lipídico	44
4.2 Cinética Plasmática da Emulsão Artificial do Quilomícrom	46
5. DISCUSSÃO	50
6. CONCLUSÕES	56
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

LISTA DE ABREVIATURAS

ACAT	acetil colesterol acil transferase
Apo	apolipoproteína
CE	colesterol esterificado
CT	colesterol total
DAC	doença arterial coronária
HDL	lipoproteína de alta densidade
HDL-C	colesterol de HDL
IDL	lipoproteína de densidade intermediária
IMC	índice de massa corpórea
LACAT	lecitina colesterol acil transferase
LDL	lipoproteína de baixa densidade
LDL-C	colesterol de LDL
Lp(a)	lipoproteína a minúsculo
LH	lipase hepática
LRP	proteína relacionada com receptor de LDL
LSR	receptor estimulado pela lipólise
QM	quilomícom
QM-r	remanescente de quilomícom
SH	sulfato de heparan
Sv	sievert
TFR	taxa fracional de remoção

TFR-CE	taxa fracional de remoção do éster de colesterol
TFR-TG	taxa fracional de remoção dos triglicérides
VLDL	lipoproteína de densidade muito baixa
VLDL-C	colesterol de VLDL

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 Doença Arterial Coronária (DAC)

Sem dúvida, foram as doenças cardiovasculares que constituíram a maior de todas as endemias do século XX nos países ocidentais desenvolvidos, tendo-se até considerado, como epidemia progressiva, o aumento rápido da incidência do infarto agudo do miocárdio nesses países. Esse mesmo comportamento vem ocorrendo nas últimas décadas nos países emergentes, para os quais as estatísticas de saúde conhecidas apontam as doenças cardiocirculatórias – incluindo entre elas as cerebrovasculares ocupando o primeiro ou o segundo lugar como causas de morte (UEMURA e col., 1988 e NICHOLLS e col., 1993).

A aterosclerose é responsável principalmente pela doença coronária, que se manifesta de diferentes formas, conforme a localização das placas de ateroma. A obstrução parcial ou total das artérias coronárias provoca a angina pectoris, que é o resultado da diminuição do fluxo sanguíneo para o coração e por fim provocar o infarto agudo do miocárdio (IAM). Quando as placas de ateroma se alojam nas artérias que irrigam o cérebro, obstruindo-as, aparecem os infartos cerebrais, também conhecidos como trombose cerebral ou acidente vascular cerebral (AVC) do tipo isquêmico.

A doença arterial coronária (DAC) é de causa multifatorial sendo que aproximadamente 25% dos pacientes com DAC, não apresentam os fatores clássicos. A doença arterial coronária (DAC) resulta essencialmente do processo aterosclerótico dentro da parede vascular. A aterosclerose tem início na juventude e se desenvolve com magnitude e rapidez variáveis, de acordo com vários fatores desencadeantes, como predisposição genética e nível plasmático do colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol), entre outros. Atualmente, consideramos a aterosclerose uma típica

doença inflamatória, na qual ocorrem diversas reações celulares e moleculares. Vários marcadores de resposta inflamatória aguda, como proteína C reativa e citocinas pró-inflamatórias, têm sido associados a estados de agudização da doença e relacionados à gravidade e ao prognóstico.

Muitos investigadores consideram a proteína C reativa um fator de risco independente para a doença coronariana, com importância comparável à do colesterol. Além disso, muitos trabalhos revelam que a elevação da proteína C reativa indica prognóstico adverso em pessoas saudáveis ou cardiopatas, de ambos os sexos, de meia-idade ou idosos. Quanto às citocinas pró-inflamatórias, muitos estudos revelam que seus níveis se elevam nas síndromes isquêmicas aguda (angina instável e infarto agudo do miocárdio), mais que na angina instável e mais que em não-coronariopatas. Níveis elevados de citocinas têm valor preditivo para infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral e morte súbita.

O processo inflamatório na placa vascular consiste na migração leucocitária par o subendotélio e a complexa interação entre células endoteliais, plaquetas, e leucócitos. Vários autores têm mostrado a correlação entre a incidência de aterosclerose e a presença de pelo menos dois tipos de microorganismos infecciosos, o herpes vírus e a *Chlamydia pneumoniae* (LIBBY e col., 1997 ; JACKSON e col., 1997). A infecção, por sua vez, pode ser considerada fator de ligação entre inflamação e aterosclerose.

Novas evidências confirmam a natureza inflamatória da doença aterosclerótica da doença coronariana aterosclerótica (ROSS, 1999).

1.1.1 Epidemiologia

Predomina, na mortalidade, a doença arterial coronária (DAC) na maioria dos países ocidentais, dentre os quais os latino-americanos, exceto o Brasil. No Leste Europeu, na Europa Central, e em países como Escócia e Finlândia, no Japão e no Brasil, as doenças cerebrovasculares estão em primeiro lugar.

Na América Latina, em especial, Argentina, Chile, Colômbia, Uruguai e Venezuela, entre 1969-1986, vêm sendo observada redução das doenças circulatórias tanto nos homens quanto nas mulheres. Nesse período, observou-se no Brasil, aumento na mortalidade por doenças isquêmicas do coração e cerebrovasculares de cerca de 11% . A

partir de 1985, o Brasil começou a apresentar a mesma tendência observada para os demais países analisados da América Latina, ou seja, uma redução nas doenças cardiovasculares. (NICHOLLS e col., 1993), de queda da mortalidade por doenças cardiocirculatórias observada nos países mais desenvolvidos da Europa, nos Estados Unidos e no Canadá. (UEMURA e col., 1988) .

Nas duas últimas décadas vêm sendo descritas as tendências declinantes de mortalidade pela DAC e pelas cerebrovasculares em diversos países (NICHOLLS e col., 1993) Entre 1970 e 1990, nos Estados Unidos, a mortalidade pelas doenças cerebrovasculares reduziu-se em 57% e pelo infarto do miocárdio, em 50%. Dentre os fatores explicativos, embora polêmicos, citam-se o tratamento da hipertensão arterial, mesmo que os valores da pressão arterial não atinjam os níveis preconizados para contra a redução das frequências do tabagismo, do sedentarismo e um discreto declínio dos níveis médios de colesterol sérico (McGOVERN e col., 1992) .

1.1.2 Aterosclerose e Doença Arterial Coronária

A aterosclerose é a principal doença que atinge a camada íntima das artérias. Deve-se ressaltar que a íntima normal das artérias de seres humanos adultos é mais espessa que a de outros mamíferos: constitui-se de endotélio e de uma faixa subendotelial em que há células musculares lisas e alguns macrófagos, com uma matriz extracelular cujos principais componentes são colágeno e proteoglicanos. São dois tipos de lesões que compõe a doença aterosclerótica: as **estrias gordurosas ("fatty streaks")**, são consideradas as lesões mais precoces, às quais se seguem as **placas fibrosas**, estas se formam na terceira década da vida e sua repercussão clínica dependerá da súbita soltura da placa (placa instável) e da conseqüente formação do trombo, ou da progressiva diminuição do fluxo, por aumento gradativo da placa fibrosa (estenose gradual) .

A doença aterosclerótica tem predileção pelas artérias coronárias, ou seja, as artérias que irrigam o coração e quando a obstrução ocorre nessas artérias diz-se que o paciente é portador de DAC. Nas coronárias e demais artérias de calibres similares, toma importância a separação das placas em concêntricas e excêntricas. As placas excêntricas tendem a ser gordurosas e mais típicas da doença enquanto que a concêntricas costumam ser mais fibrosas.

Estudos mais detalhados com microscopia convencional e eletrônica (STARY e col., 1998) permitiram melhor e mais detalhada caracterização histopatológica das diferentes lesões identificadas macroscopicamente; de acordo com a estrutura microscópica e na composição histoquímica das lesões. O autor propôs oito diferentes tipos de lesões: Tipo I - lesão inicial; Tipo II - estria gordurosa - potencial evolutivo; Tipo III - pré-ateroma; Tipo IV - ateroma; Tipo V- fibroateroma; Tipo VI - lesões complicadas (hematoma-trombo); Tipo VII - lesão calcificada e Tipo VIII - lesão fibrótica.

A aterosclerose é resultante da interação de processos múltiplos envolvendo injúria endotelial e resposta inflamatória, e que na sociedade ocidental causa atualmente 50% das mortes (ROSS, 1999; LUSIS, 2000).

1.1.2.1 Fisiopatologia da aterosclerose coronária

A fisiopatologia da aterosclerose não está totalmente estabelecida. Atualmente, considera-se mais provável a teoria da disfunção endotelial que a denudação. A lesão do endotélio pode ter como causa: elevação do LDL-colesterol e LDL modificados; radicais livres produzidos pelo cigarro, hipertensão, diabetes; alterações genéticas; elevação de homocisteína; e infecções por clamídia (HIGUCHI e col., 2000) e herpes vírus (BERLINER e col., 1998). O endotélio agredido cronicamente sofre um aumento da adesividade de plaquetas e leucócitos, de sua permeabilidade e de fatores pró-coagulantes, e permite a liberação de moléculas vasoativas, citocinas, fatores de crescimento, num processo duradouro e recorrente (WILLIAMS e col., 1998).

A aterosclerose humana é um processo crônico, progressivo e sistêmico, caracterizado por resposta inflamatória e fibroproliferativa da parede arterial, causada por agressões da superfície arterial. Como processo sistêmico, frequentemente, acomete todos os leitos arteriais incluindo a aorta e seus ramos principais: carótidas, renais, ilíacas e femorais. A hipercolesterolemia, a hipertensão arterial (HA), o diabetes, o tabagismo, as reações imunológicas e inflamatórias, e a susceptibilidade genética individual figuram entre os fatores de risco para lesão arterial (ROSS,1986)

As alterações vasculares coronárias presentes na aterosclerose derivam de três componentes fundamentais: **disfunção endotelial**, que se instala precocemente, com alteração da reatividade do vaso, causando vasoconstrição paradoxal, após estímulos com a

acetilcolina, e exacerbação da reatividade à epinefrina e angiotensina; a disfunção endotelial, também, induz à **perda das propriedades antitrombóticas** naturais e da permeabilidade seletiva do endotélio; **obstrução** da luz do vaso pela placa aterosclerótica e complicação trombótica no local da lesão. Todos são capazes de causar Insuficiência Coronária (IC), mas frequentemente ocorrem ao mesmo tempo.

Resposta da parede arterial a agentes agressores:

As células endoteliais desempenham diversas funções fisiológicas na manutenção da integridade da parede arterial e constituem barreira permeável através da qual ocorrem difusão e trocas ou transporte ativo de diversas substâncias; proporcionam superfície não trombogênica e não aderente para plaquetas e leucócitos, atua na manutenção do tônus vascular através da liberação de óxido nítrico (NO), prostaciclina (PGI₂) e endotelinas; produzem e secretam fatores de crescimento e citocinas e mantêm a integridade da membrana basal rica em colágenos e proteoglicanos na qual estão apoiadas (MONCADA e col., 1993). Alterações em uma ou mais destas funções representam manifestações iniciais de disfunção endotelial e poderão desencadear interações celulares com monócitos, plaquetas, células musculares lisas e, linfócitos, dando início à formação da placa de ateroma (ROSS, 1993 ; BERLINER e col., 1995).

Um dos fatores desencadeantes da função endotelial é a hipercolesterolemia, a qual se acompanha do aumento de transporte por transcitose da LDL para a camada íntima, seguindo-se do acúmulo dessas lipoproteínas, tanto na forma nativa como na oxidada, com peroxidação dos fosfolípidos que as compõem e formação das partículas e mistelas compactas ou vesículas maiores denominadas de lipossomos extracelulares (ROSS, 1993; MOREL e col., 1984). O efeito citotóxico das lipoproteínas ocasiona disfunção endotelial, traduzindo-se em hiperplasia da lâmina basal a qual se destaca do endotélio e, ainda, proliferação e reorganização da matriz extracelular que agora contém lipossomos. Outra consequência é o estímulo do endotélio para a produção e liberação de quimiotáticos e moléculas de adesão para leucócitos na superfície endotelial (ROSS, 1993; MOREL e col., 1984).

Diversos estudos (BEVILACQUA e col., 1993; GIMBRONE e col., 1994; LUSCINSKAS e col., 1997 ; JANG e col. 1994) demonstraram a presença de moléculas indutoras da adesão de leucócitos nas lesões ateroscleróticas em suas diversas fases de evolução. Essas moléculas atraem leucócitos, mais especificamente monócitos, e são

expressas e detectadas na superfície, nas fases iniciais de lesões arteriais ou em áreas sujeitas a lesões, como aquelas próximas a bifurcações de ramos arteriais, entre as principais moléculas de adesão destacam-se a molécula de adesão da célula vascular (MACV-1), a molécula de adesão intercelular (MAIC-1), a E-seletina também denominada de molécula de adesão da fase aguda, e molécula de adesão entre endotélio e leucócitos (MAEL-1), entre outras. Acredita-se que a secreção de molécula de adesão é regulada por citocinas sintetizadas em pequenas concentrações pelo endotélio arterial. Destas salientam-se a interleucina-1 (IL-1), a interleucina-4 (IL-4), o fator de necrose tumoral- α (FNT- α) e a gama interferon (IFN- γ).

Na vigência de disfunção endotelial, a concentração destas se eleva, estimulando a produção de moléculas de adesão, assim favorecendo o recrutamento e adesão de monócitos à superfície endotelial (LUSCINSKAS e col., 1997), estudaram a sequência de eventos desencadeados pela interação de monócitos e células endoteliais ativadas pela IL-4. São observadas quatro fases distintas. A 1^o, denominada de fase de rolamento, estabelece o contato inicial entre monócitos e a superfície endotelial em condições hemodinâmicas normais e é mediada pela L-seletina; a interação é com a porção glicídica das glicoproteínas presentes na membrana dos leucócitos. A 2^o fase, denominada de fase de parada, é caracterizada pela ativação dos monócitos, causada por quimiotáticos e/ou moléculas acessórias que desencadeiam a ativação de moléculas de adesão. Uma vez ativadas tais moléculas conectam-se aos monócitos caracterizando a fase de adesão firme ou também denominada de fase de parada. Esta é dependente de integrinas presentes nos monócitos como a $\alpha 4\beta 1$ e da MACV-1 endotelial. Monócitos aderidos podem se espalhar na superfície apical do endotélio, originando a 3^o fase, denominada de espalhamento. Tal processo é dependente de integrinas β_2 sintetizadas pelos monócitos, e de MAIC-1 e/ou MAIC-2 presentes nas células endoteliais. Os monócitos já espalhados migram às junções intercelulares e ganham o espaço subendotelial por diapedese; esta fase final é conhecida como fase de diapedese e parece ser dependente da molécula de adesão das células plaquetas-endotélio (MACPE-1), expressa em leucócitos e células endoteliais.

As moléculas de adesão podem promover lesão endotelial por diminuição da distância entre monócitos e células endoteliais e facilitação do ataque de espécies ativas de oxigênio, como ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila, originadas por monócitos ativados, constituindo fator adicional favorecedor da aterogênese (MUROTA e col., 1995).

Concentrações elevadas de LDL plasmáticas facilitam a penetração dessas partículas na região subendotelial. Em contato com células endoteliais, macrófagos ou células musculares lisas, as partículas de LDL sofrem oxidação progressiva; inicialmente apenas de seus lípidos (LDL minimamente oxidada) e, depois, também de seu componente protéico (LDLox totalmente oxidada) (STEIMBERG e col., 1989). A partícula passa a ser reconhecida por receptores acetilados (BROWN e col., 1986) e CD-3 (ENDEMANN e col., 1993) na superfície dos macrófagos. Tais receptores não são regulados pela concentração intracelular de colesterol; assim, macrófagos incorporam grandes partículas de LDLox e tornam-se ricos em conteúdo lipídico. Formam-se então as células espumosas, características da estria gordurosa, que é a lesão mais precoce reconhecida no início da aterosclerose. A LDLox exerce ações importantes, tais como: formação de células espumosas, produção de substâncias quimiotáticas - como a proteína quimiotática monocitária - que atrai monócitos para a região subendotelial, diminuição da recirculação da monócitos residentes, o que retém monócitos no subendotélio; por fim, a LDL oxidada é tóxica para os tecidos (BEVILACQUA e col., 1993) o que causa lesão estrutural do endotélio.

Entre as alterações causadas pela presença de LDLox está também a produção de interleucina-1 que estimula a migração e proliferação das células musculares lisas da camada média arterial. Estas, ao migrarem para a íntima, proliferam e passam a produzir não só citocinas e fatores de crescimento, como também matriz extracelular, constituída principalmente de colágeno e proteoglicanos, que formará parte da capa fibrosa da placa aterosclerótica madura (ROSS, 1993). A erosão endotelial induzida pela LDLox pode causar também a formação de microtrombos de plaquetas, que também irão produzir fatores de crescimento, como o fator de crescimento derivado da plaqueta (FCDP) (ROSS, 1993). Neste momento, o endotélio pode apresentar lesões extensas, verdadeiras erosões. A interação entre plaquetas, endotélio, células musculares lisas e macrófagos irá determinar o grau de proliferação celular, secreção de matriz extracelular e, conseqüentemente, a extensão da placa madura (**Figura 1**) (Modificado de Ross e col, 1986).

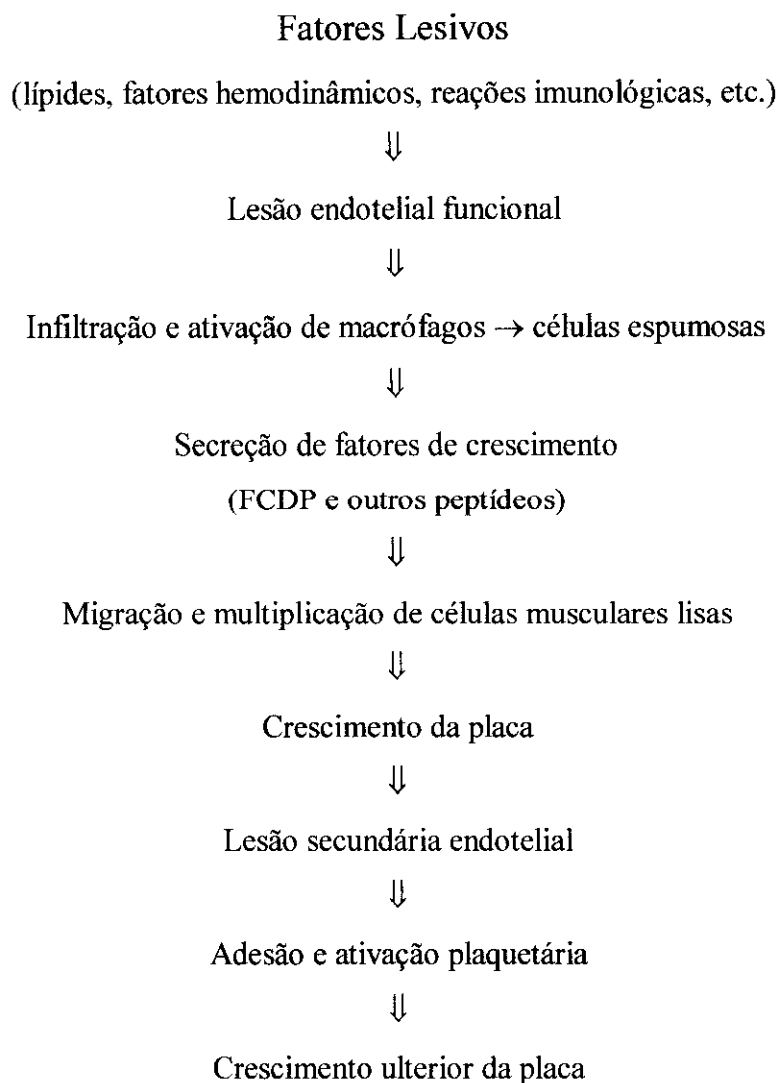


Figura 1- Possível Sequência de Eventos na Teoria à Resposta à Lesão

Anatomia da placa aterosclerótica:

A evolução da lesão aterosclerótica de estria gordurosa até a placa fibrosa é bastante lenta. Estudos patológicos demonstraram, em homens e animais, que o crescimento da placa aterosclerótica ocorre inicialmente na porção externa do vaso (GLAGOV e col., 1987) demonstraram remodelamento da parede arterial em placas ateroscleróticas, com expansão da parede no sentido externo e preservação da luz no início

do processo. Logo, a placa pode passar anos neste processo contínuo de remodelamento até apresentar estenose luminal.

A placa aterosclerótica madura apresenta, além de células, dois componentes estruturais distintos: um núcleo lipídico, pouco denso, e a capa fibrosa, que é o seu componente fibrótico. Este componente fibroso representa cerca de 70% do tamanho total da placa (SCHWARTZ e col., 1991 ; KRAGEL e col., 1989 ; KRAGEL e col., 1990; ROSENSCHEIN e col., 1992; DAVIES, 1995; DAVIES e col., 1993) e, quanto maior, menos propensa ao rompimento é a placa. A capa fibrosa é formada basicamente por células musculares lisas, matriz extracelular e células inflamatórias. A matriz consiste de colágeno, elastina, proteoglicanos e microfibrilas protéicas. Citocinas e fatores de crescimento regulam a síntese dos componentes da matriz .

O núcleo lipídico é hipocelular e rico em lípidos extracelulares, principalmente cristais e ésteres de colesterol. Sua patogênese é controversa, pois pode derivar tanto dos lípidos aprisionados no espaço extracelular como da necrose ou apoptose das células espumosas (ROSENSCHEIN e col., 1992) . O conteúdo deste núcleo lipídico é altamente trombogênico. Quando em contato com a corrente sanguínea, por rotura da capa fibrosa ou erosão endotelial ocorrem os fenômenos de adesão e agregação plaquetária, e a geração de trombina e fibrina, com formação de trombo sobrejacente, que representa o ponto inicial comum das síndromes coronárias agudas (**Tabela 1**).

A sequência da progressão das lesões, do tipo I inicial até o tipo IV dá-se pelo acúmulo progressivo de lipídios. Essa evolução é lenta; inicia-se na 1^o década da vida e vai até a 3^o década; esse é o período silencioso da doença. Ao atingir a fase IV o crescimento se dá por acúmulo acelerado de células musculares lisas e de colágeno, passando para lesão tipo V; ou, de forma mais brusca, pela instabilização, com a ocorrência de roturas e trombose ou hematoma e temos as lesões tipo VI. Nessas últimas, os trombos podem ser incorporados à lesão, a qual cresce e volta a ser do tipo V. Essa oscilação entre as placas V e VI é o principal mecanismo de oclusão gradual das lesões avançadas nas artérias de calibre médio.

Tabela 1 – Estágios da Aterosclerose (Classificação da American Heart Association)

Tipo de Lesão	Características
Lesões iniciais	
Tipo I	Aumento do número de macrófagos e surgimento de células espumosas, distribuídas ao acaso. Estão presentes em 45% das crianças de até 8 meses de vida.
Tipo II (estria gordurosa)	Primeira visão visível. Camadas de células espumosas e gotas de gordura dentro das células musculares lisas, no espaço extracelular, partículas lipídicas mínimas de aspecto grosseiro e heterogêneo. Presentes em 65% dos adolescentes.
IIa	Com espessamento intimal. Lesões com tendência à progressão.
IIb	Com íntima mais fina e com poucas células musculares lisas.
Lesão intermediária	
Tipo III	Lesões semelhantes àquelas do tipo II, acompanhadas de coleções extracelulares de lipídios.
Lesões avançadas	
Tipo IV (ateroma)	A confluência das coleções lipídicas das lesões tipo II cria acúmulo extracelular denso de lipídio em região bem delimitada da íntima, o núcleo lipídico. Não há tecido fibroso acentuado nem presença de complicações tais como defeitos na superfície da placa ou trombose. Entre o núcleo lipídico e a superfície endotelial há matrix extracelular rica em proteoglicanos e células como linfócitos, macrófagos e células espumosas. Habitualmente não estão associadas a estreitamento da luz do vaso. Pelo contrário, pode haver aumento do diâmetro quando medido a partir da adventícia.

Tipo V	Quando se desenvolve cápsula fibrosa. Geralmente causa estreitamento da luz e podem sofrer fissuras, hematomas ou trombozes.
Va (fibroateroma)	Tecido fibroso contendo o núcleo lipídico. Novos núcleos lipídicos podem surgir em locais e planos diferentes criando lesão assimétrica.
Vb	Calcificação do núcleo fibroso ou de outras partes da lesão.
Vc	Ausência ou presença mínima de núcleo lipídico.
Lesão Complicada	
Tipo VI	São, geralmente, lesões tipo IV ou V que sofreram rotura na superfície, hematoma ou hemorragia e com depósitos de trombos.
VIa	Rotura de superfície
VIb	Hematoma ou hemorragia
VIc	Trombose
VIabc	Rotura, hemorragia e trombose

1.1.2.2 Mecanismo da aterogênese

As lesões ateroscleróticas iniciam-se após algum tipo de injúria na camada endotelial (ROSS, 1995) e esta sintetiza e libera substâncias vasoativas causando disfunção endotelial e esta é o evento inicial do processo aterogênico. Após a disfunção endotelial ocorrem vários eventos, como expressão de sítios de ligação de leucócitos, produção de fatores de crescimento, moléculas quimiotáticas e vasoreativas, capacidade de oxidar LDL e de responder às lipoproteínas oxidadas, capacidade de expressar atividade pró-

coagulantes e modulação da permeabilidade vascular. Esses fatores fazem com que ocorra lesão na parede arterial (camada íntima) aumentando a permeabilidade endotelial aos constituintes plasmáticos (lípidos, monócitos, linfócito T e plaquetas) que dão origem a aterogênese.

1.1.3 Fatores de risco: ponto de partida para prevenção da DAC

Inúmeros estudos epidemiológicos prospectivos, dos quais se salienta o de Framingham (1948), permitiram estabelecer que alguns atributos estão associados ao aparecimento futuro das manifestações clínicas da doença aterosclerótica, dentre as quais a principal é doença arterial coronária (DAC) (KANNEL e col., 1961). Esses atributos ficaram conhecidos como “fatores de risco” (FR). É universalmente aceito que idade, sexo, história familiar, hipertensão arterial, hipercolesterolemia e tabagismo são fatores principais.

Outros fatores pesquisados, como vida sedentária, tipo de personalidade, condições socioeconômicas, por induzirem o aparecimento de um ou mais dos fatores principais (hipertensão, hipercolesterolemia, tabagismo) são aceitos como “secundários”.

Em geral quanto maior o número ou a severidade dos fatores de risco observados, maior a probabilidade de morbi-mortalidade precoce. Além disso, a relação entre os fatores de risco parece ser de multiplicação, e não simplesmente de adição (CARRUTHERS e col., 1993). Atualmente, a classificação mais utilizada dos fatores de risco é quanto à possibilidade de serem ou não modificáveis por intervenções, seja com a mudança do estilo de vida e/ou com a utilização de terapêutica medicamentosa. Portanto, o reconhecimento dos fatores implicados no desenvolvimento da DAC se faz essencial, na medida em que permite melhor compreensão de sua patogênese e direciona a elaboração de planos preventivos e terapêuticos.

A expressão “fator de risco” foi utilizada, pela primeira vez, no Estudo Cardiológico de Framingham, iniciado em 1948, para denominar os atributos que estatisticamente contribuíam para o desenvolvimento da DAC. Os resultados iniciais desse estudo já demonstravam interação entre estes fatores e potencialização do risco para DAC, na medida em que mais de um fator estivesse circulatório são modificáveis risco de através de medidas adequadas, o que contribuiria para a diminuição dos eventos cardiovasculares

fatais e não-fatais. Isso demonstra a enorme importância de intervenções preventivas para a doença aterosclerótica de uma maneira geral (o que foi já evidenciado nos inúmeros estudos de prevenção primária e secundária já publicados). Atualmente, a classificação mais utilizada dos fatores é:

Não-Modificáveis: Idade, sexo, história familiar positiva para DAC;

Modificáveis: Dislipidemia, diabetes melito, hipertensão arterial, tabagismo, obesidade, sedentarismo e estresse;

Parcialmente Modificáveis: HDL-C baixo ($\leq 35\text{mg/dl}$), Lp(a), fibrinogênio e homocisteína.

1.1.3.1 Fatores de risco não-modificáveis

Idade e Sexo:

A ocorrência de doença arterial coronária é cerca de três a quatro vezes mais frequente nos homens até os 55 anos, e a epidemiologia clínica demonstra ainda, de forma inequívoca, o aumento do risco na população feminina nesta faixa etária (acima dos 55 anos), devido ao advento da menopausa. Em torno dos 75 anos de idade as incidências se igualam em ambos os sexos. Portanto, consideramos como fator de risco para DAC a idade ≥ 45 anos nos homens e ≥ 55 anos nas mulheres.

Histórico familiar:

Sabemos também que a cardiopatia coronariana tem forte influência familiar: os parentes em primeiro grau de pacientes com DAC tem riscos maiores do que a população em geral. Inúmeros estudos prospectivos demonstram que os antecedentes familiares positivos são fator de risco dito independente para DAC e que sua magnitude de risco pode ser avaliada pela frequência dos antecedentes familiares positivos.

1.1.3.2 Fatores de risco modificáveis

Hipercolesterolemia:

Evidências biológicas, epidemiológicas e terapêuticas comprovam a íntima relação deste fator de risco com o desenvolvimento, evolução e agravamento da DAC. O “Estudo dos Sete Países - The Seven Countries Study-, que envolveu cerca de 12.700 homens de 16 diferentes regiões em sete países, demonstrou relação entre o nível sérico do colesterol e a ingestão de gorduras na alimentação, além da correlação positiva com a mortalidade por DAC. Já o “Estudo de Framingham” (prospectivo) evidenciou, dentre outros, a importância do nível de colesterolemia em indivíduos normais no desenvolvimento futuro de complicações de DAC. Não podemos deixar de mencionar o “Estudo de Intervenção sobre Múltiplos Fatores de Risco” –Multiple Risk Factor Intervention Trial / MRFIT- que acompanhou mais de 360.000 pacientes nos EUA por cerca de seis anos e que demonstrou de forma elegante que, à medida que o nível de colesterol vai aumentando, sobe também o risco de aparecimento de doença aterosclerótica: O risco de DAC é duplicado quando os níveis de colesterolemia passam de 200 para 250mg/dl e quadruplicado quando nível é de 300mg/dl. Em estudos clínicos, a redução de 1% no colesterol total se associou com a diminuição, em média, de 2-3% no risco de DAC.

Devemos ainda salientar a associação forte e independente do risco aterosclerótico ao nível plasmático do colesterol HDL: seus níveis baixos aumentam o risco, e os níveis elevados são cardioprotetores; as pesquisas demonstram que para o incremento de 1 mg no nível sérico do HDL-C diminui cerca de 2-3% do risco coronariano.

Enquanto o papel da LDL tornava-se cada vez mais compreendido, uma outra classe de lipoproteína começava a ser apreciada como desempenhando um importante papel no processo de aterogênese, as lipoproteínas ricas em triglicérides, isto é, VLDL e os quilomícrons. No início da década de 50, foi proposto que pacientes com DAC apresentavam uma prolongada turbidez pós-prandial no plasma, devido à circulação por muito tempo das lipoproteínas ricas em triglicérides (EBENBICHLER e col.,1995). Este conceito foi abandonado pelos autores até que Zilversmit propôs que os remanescentes de quilomícrons desempenham um papel relevante no processo aterosclerótico (ZILVERSMIT, 1979).

Pressão Arterial:

Níveis pressóricos acima de 140/90mmHg estão inequivocamente relacionados apresentam uma relação de risco tipo linear, chegando a triplicar para pressões mais elevadas.

Um estudo publicado em 1990 por MacMahon et al.(MACMAHOM, S e col, 1990), avaliando a relação da pressão arterial diastólica com risco para AVC e DAC, juntamente com análise de dados de Framingham, demonstrou que para um aumento persistente de 5mmHg na diastólica tínhamos um incremento no risco para AVC de 34% e no risco para DAC de 21%.

Apesar da hipertensão arterial ser causa muito freqüente de doença coronária, a repercussão do controle pressórico diminui de forma mais significativa o risco de doença cerebrovascular (em torno de 40%) do que o de DAC (cerca de 15%); várias razões podem contribuir para este fato, dentre elas, a característica multifatorial da cardiopatia coronariana e os possíveis efeitos adversos da medicação anti-hipertensiva utilizada, principalmente os metabólitos.

Diabetes Mellitus:

O risco para cardiopatia coronariana está aumentado em cerca de duas a quatro vezes nos pacientes com diabetes; naqueles portadores do diabetes do tipo 2; este risco é independente do tempo de evolução da doença. Estudos epidemiológicos prospectivos evidenciam que concentrações plasmáticas elevadas de glicose, porém ainda abaixo da faixa do diabetes, estão relacionadas com risco maior para DAC.

Esses estudos reforçam o conceito de uma relação gradativa entre glicemia e eventos cardiovasculares, que começa abaixo dos níveis considerados “alterados”. A glicemia é hoje considerada um fator de risco contínuo para DAC, de forma semelhante ao que acontece com os níveis de colesterol e de pressão arterial.

Tabagismo:

Considerado como um dos fatores de risco dito maiores para DAC, é o único totalmente modificável. Portanto, todo empenho deve ser feito no sentido de buscar a interrupção do ato de fumar.

Dentre alguns efeitos adversos do tabagismo temos alterações das lipoproteínas (diminuição do HDL-C), aumento na frequência cardíaca e na pressão

arterial, incremento na ativação e agregação plaquetária, elevação do fibrinogênio e disfunção endotelial.

A magnitude do risco coronariano, que é de duas a quatro vezes maior nos fumantes, estabelece uma relação ainda com o número de cigarros consumidos. Nas mulheres em fase pós-menopausa este risco é aumentado em seis vezes. Naqueles pacientes em prevenção secundária, o fumo pode aumentar a mortalidade por DAC em cerca de 50% e a interrupção do tabagismo faz com que o risco para DAC decline progressivamente.

Obesidade:

Definida por um IMC (Índice de Massa Corporal) $\geq 30 \text{kg/m}^2$ e está frequentemente associado a inúmeros outros fatores de risco. A obesidade do tipo central, concentrada no abdômen (parede abdominal e vísceras) está relacionada a um incremento no risco do paciente. Uma forma prática e eficiente de se avaliar a presença preferencial ou não deste tipo de obesidade é a relação cintura/quadril, cujos valores desejáveis são de $< 0,9$ para os homens e $< 0,8$ para as mulheres.

Sedentarismo:

A atividade física rotineira, em especial a diária, por si só já diminui o risco de DAC, que é cerca de oito vezes maior do que os indivíduos ativos.

Estresse:

Apesar de existirem controvérsias sobre o papel do stresse emocional e/ou tipo de personalidade na determinação do risco para DAC, sabemos da sua importância como “gatilho” no desencadear de um evento agudo.

1.1.3.3 Fatores de risco parcialmente modificáveis

Estudos demonstraram que a lipoproteína a ou **Lp(a)**, **homocisteína** e **fibrinogênio** devem ser considerados fatores de risco independentes para a cardiopatia coronária. Provavelmente exercem papel fundamental na gênese da DAC em alguns indivíduos e, com certeza, têm importância na avaliação prognóstica de pacientes em prevenção secundária.

De modo geral medidas que reduzem o impacto dos fatores de risco tradicionais, com abandono do hábito de fumar, atividade física e redução da ingestão de gorduras saturadas, também tem efeito favorável sobre esses fatores. Medidas específicas como reposição de folatos (homocisteína) , antiagregantes plaquetários e terapêutica de reposição hormonal em mulheres após menopausa são abordadas potencialmente benéficas do ponto de vista de redução de risco.

1.2 Lipoproteínas Plasmáticas

Os lípides são elementos químicos fundamentais para a formação de todas as células do organismo, para a secreção de vitaminas, bile, hormônios esteróides e para a produção e armazenamento de energia. Não existe possibilidade de que eles atinjam os tecidos na forma livre, pois, para circularem no sangue necessitam de complexos hidrossolúveis.

Por serem insolúveis em meio aquoso, os lípides são transportados na circulação sanguínea na forma de complexos hidrossolúveis de alto peso molecular, denominados de lipoproteínas. Tanto os lípidos provenientes da dieta (exógenos) , como aqueles fabricados pelo próprio organismo (endógenos), organizam-se na forma de macroagregados lipoproteicos, nos quais os triglicérides e colesterol esterificado ficam envolvidos por fosfolípidos e colesterol livres, ligando-se a proteínas específicas denominadas apoproteínas. As apolipoproteínas (apo.) são componentes protéicos que se associam às lipoproteínas através de interações não covalentes. As apolipoproteínas são classificadas de acordo com uma nomenclatura alfa-numérica em: apolipoproteína A-I, A-II e A-IV, B-48 e B-100, apolipoproteína C-I, C-II e C-III, apolipoproteína D e apolipoproteína E.

As apoproteínas desempenham importantes funções no metabolismo das lipoproteínas relacionadas com estabilização da sua estrutura, modulação do seu metabolismo, atuando como ativadores ou bloqueadores enzimáticos e mediação da captação celular das lipoproteínas por receptores específicos (SCHAEFER e col., 1978).

As evidências que ligam as diversas lipoproteínas à doença aterosclerótica derivam de estudos epidemiológicos, experimentais, clínicos e metabólicos. Os mecanismos pelos quais, entre eles a formação de células espumosas, alterações da coagulação, alterações das lipoproteínas se relacionam com a doença aterosclerótica coronária podem ser plaquetárias, alterações da fibrinólise e alterações do endotélio.

Convencionalmente, as lipoproteínas são classificadas de acordo com sua densidade de flotação em ultracentrifugação em gradiente de densidade e de acordo com sua migração eletroforética (LEE e col., 1970; CHAPMAN e col., 1981). **(Tabela 2)** Empregando-se as siglas da terminologia da língua inglesa, uma vez que esta é forma empregada no mundo todo e foi adotada também pelo Consenso Brasileiro de Dislipidemias, (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 1996): Quilomícrons, VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade), IDL (lipoproteínas de densidade intermediária), LDL (lipoproteínas de baixa densidade) e HDL (lipoproteína de alta densidade) e a Lp(a) (lipoproteína a minúsculo). As lipoproteínas plasmáticas são caracterizadas também por sua composição lipídica e seu conteúdo protéico característico **(Tabela 3)**.

Tabela 2 – Características das Lipoproteínas

	Densidade de Flotação (g/ml)	Mobilidade Eletroforética	Diâmetro (nm)
QM	< 0,950	Nula	75 - 1200
VLDL	0,950 - 1,006	Pré Beta	30 - 70
IDL	1,006 - 1,030	-	
LDL	1,006 - 1,020	Beta	18 - 30
Lp(a)	1,050 - 1,100	Entre VLDL e LDL	
HDL	1,020 - 1,065	Alfa	5 - 12

Tabela 3 – Composição Lipídica e Protéica de Algumas Lipoproteínas

	TG %	FL %	CL %	CE %	PROT %
QM	80-95	3-6	1-3	2-4	1-2
VLDL B100	45 - 65	15 - 20	4 - 8	16 - 22	6 - 10
LDL B100	4 - 8	18 -24	6 - 8	46 - 50	18 - 22
HDL	2 - 7	26 - 32	3 - 5	15 - 20	45 - 55

Atualmente, entende-se que, embora aterosclerose seja doença complexa e multifatorial, existe um evento patogênico chave, denominado retenção de lipoproteínas, que é tanto necessário como suficiente para provocar o início de lesões numa artéria anteriormente normal. A compreensão atual da aterogênese inicia-se com retenção, na parede arterial, de lipoproteínas aterogênicas ricas em apo-B, modificação dessas lipoproteínas, incluindo oxidação e digestão enzimática, e respostas arteriais, tais como a expressão de moléculas de adesão celular e subsequente recrutamento de células inflamatórias. Desse modo, a hipótese da resposta retenção pode ser considerada um paradigma central no entendimento da patogênese da aterosclerose (WILLIAMS e col., 1998).

1.2.1. Transporte de lípidos na circulação sangüínea

O sistema de transporte dos lípidos pelo plasma pode ser classificado em “endógeno” e “exógeno” de acordo com a origem das lipoproteínas, hepática ou intestinal, respectivamente (GOLDSTEIN, 1983).

1.2.1.1 Transporte endógeno

VLDL:

A principal função da VLDL é o transporte de triglicérides sintetizados pelo fígado para os tecidos periféricos. Este componente constitui cerca de 45% a 65% do peso total da partícula (EISENBERG e col.,1975) . A regulação da síntese hepática de VLDL é

dependente do balanço energético e metabólico, sendo mediada por hormônios (REAVEN e col., 1974).

A VLDL recém - sintetizada contém a apoB-100. Logo após sua secreção, adquire as apo E e C-II, doadas pela HDL (SHAEFER e col., 1978). A apo CII atua como co-fator da lipase lipoprotéica (LPL) (KRAUSS e col., 1973), enzima ligada à membrana das células endoteliais dos capilares de vários tecidos como: tecido adiposo (FIELDING, 1976), músculos esqueléticos (LINDER e col., 1976) e cardíaco (COREY e col., 1977), entre outros (QUINN e col., 1982). Esta enzima catalisa a hidrólise dos triglicérides, VLDL e quilomícrons (QUINN e col., 1982). Conseqüentemente, a partícula de VLDL tem seu diâmetro reduzido e sua densidade aumentada, sendo convertida em IDL (lipoproteína de densidade intermediária). A meia vida plasmática da VLDL é de duas a quatro horas.

IDL:

As partículas de IDL formadas a partir do catabolismo da VLDL podem seguir dois caminhos (BROWN e col., 1986):

1º) As partículas de maior tamanho (cerca de 50% do pool plasmático de IDL) são rapidamente removidas da circulação pelo fígado. Esta captação pode ser mediada pelas ligações de alta afinidade, tanto a receptores de apo E (receptor E ou receptor de remanescentes) (ARBEENY e col., 1984), como a receptores de apo B e E (receptor B, E ou receptor de LDL) (BROWN e col., 1986; GREGG e col., 1988), existentes na superfície das células hepáticas.

2º) As partículas de IDL de menor tamanho podem ser removidas pelo fígado ou ser convertidas em LDL (EISENBERG e col., 1975)

LDL:

A LDL tem como principal função o transporte de colesterol para os tecidos periféricos, onde é utilizado na formação de novas membranas celulares ou na síntese de hormônios esteróides pelo córtex da adrenal e gônadas (EISENBERG e col., 1975).

Estudos *in vivo* demonstraram que o fígado é o principal órgão de captação da LDL (BROWN e col., 1986; BROWN e col., 1983). Este processo ocorre através da interação com o receptor específico de LDL, de alta afinidade e presente no fígado, assim como em vários tecidos extra-hepáticos. O receptor de LDL, responsável pela captação de 2/3 da LDL circulante, localiza-se na célula, em regiões diferenciadas da membrana

citoplasmática (denominadas coated pits ou depressões recobertas) (GOLDSTEIN e col., 1979). Após a ligação da lipoproteína ao receptor, esta região da membrana sofre rápida invaginação, formando uma vesícula que engloba a lipoproteína. A vesícula se funde com lisossomos, e apolipoproteínas são hidrolisadas a aminoácidos por proteases e os ésteres de colesterol são hidrolisados por lípases ácidas, gerando o colesterol livre (GOLDSTEIN e col., 1979; BROWN e col., 1981). Este processo denomina-se endocitose mediada por receptores.

Dentro da célula, o colesterol derivado do catabolismo da LDL pode ser utilizado no metabolismo celular e, além disso, regula três eventos metabólicos através de ativações e bloqueios enzimáticos:

1. Suprime a biossíntese de colesterol intracelular através da inibição da atividade da enzima HMGCoA redutase.
2. Ativa a reesterificação de colesterol através da ativação da enzima ACAT. O colesterol esterificado resultante é armazenado no citoplasma da célula como gotículas lipídicas;
3. Inibe a síntese do próprio receptor de LDL. Isto faz cessar a captação da LDL e evita que as células se tornem sobrecarregadas de colesterol quando expostas à LDL. Em situação contrária, quando o nível citoplasmático de colesterol encontra-se diminuído, a célula aumenta a síntese de receptores e ativa a biossíntese de colesterol. Através desse mecanismo de retroalimentação negativa (ou feedback), os níveis citoplasmáticos de colesterol são mantidos (BROWN e col., 1986; BROWN e col., 1981).

A regulação do receptor de LDL é o principal fator que controla as concentrações plasmáticas de LDL-C. Defeitos no receptor ou na apoB-100 dificultam a captação celular da partícula e resultam em remoção plasmática deficiente da mesma e conseqüentemente aumento da concentração plasmática de LDL-C. Níveis plasmáticos elevados de LDL-C levam a um maior tempo de permanência da LDL no espaço subendotelial, o que pode aumentar a possibilidade da mesma sofrer modificações na sua composição lipídica ou protéica. Uma vez modificada, a LDL passa a não ser reconhecida por receptores específicos e é removida da circulação sanguínea através de receptores de varredura ou receptores “scavengers”, presentes em células do sistema retículo-endotelial, como macrófagos. Essas células não possuem o mecanismo de retroalimentação negativa e

tornam-se repletas de colesterol, convertendo-se em células espumosas, cujo aparecimento é um dos eventos mais precoces no processo aterogênico.

O colesterol que retorna para o fígado pode ainda ser excretado na bile nas formas oxidada ou de ácidos biliares. Uma fração desta mistura é, então, perdida nas fezes (EISENBERG e col, 1975). Há, também, outras vias de captação não específica da LDL, relacionadas aos mecanismos de aterogênese (STEINBERG e col, 1987).

HDL:

A HDL também é uma lipoproteína que se destaca na função do transporte endógeno de lípidos. É constituída por 45-55% de proteínas, 26-32% de fosfolípidos, 15 a 20% de colesterol esterificado, 3 a 5% de colesterol livre e 2-7% de triglicérides (GOTTO e col., 1983). Corresponde a um grupo heterogêneo de partículas e apresenta uma meia vida de cinco a seis dias, a mais longa de todas as lipoproteínas. Tem-se atribuído à HDL papel importante no transporte reverso do colesterol, ou seja, o transporte plasmático do colesterol livre proveniente das células da parede arterial (BIERMAN e col., 1987), e/ou dos componentes de superfície das lipoproteínas ricas em triglicérides (VLDL e Quilomícrom) (PATSCHE e col., 1984), para o fígado, onde é metabolizado e excretado pelas vilas biliares. Neste percurso, o colesterol livre captado pela HDL é esterificado pela enzima lecitina-colesterol-aciltransferase (LCAT). Assim, as partículas de HDL são convertidas em pequenas esferas. A LCAT circula em associação com a HDL (EISENBERG e col., 1984.) e a apo A-I, presente nesta lipoproteína, é importante co-fator da enzima (SCHAEFER e col., 1982).

A HDL nascente, sintetizada principalmente no fígado, é lançada na circulação sob a forma de partícula discóide, com alta conteúdo de colesterol livre e também composta de fosfolípidos e apo A-I, principalmente apo A-I e apo A-II (EISENBERG e col., 1984). Essas partículas captam o excesso de colesterol livre das células dos tecidos periféricos e da superfície das lipoproteínas ricas em triglicérides (VLDL e Quilomícrom), sendo convertidas a partículas menores, a HDL₃. A HDL₃ é o substrato de eleição da enzima lecitina-colesterol-acil-transferase (LCAT), que é sintetizada e secretada pelo fígado e transportada na circulação sanguínea em associação com a HDL. A apo A-I presente na lipoproteína é um co-fator de ativação da LCAT, a qual esterifica o colesterol livre da HDL₃, convertendo-a à HDL₂.

A esterificação do colesterol ocorre com a transferência de um ácido graxo da posição -2 de um fosfolípide (lecitina) para o grupo hidroxila da molécula de colesterol. A proteína de transferência de ésteres de colesterol (CETP) pode trocar o colesterol esterificado da HDL por triglicéride das lipoproteínas ricas em triglicérides e da LDL. (MARCEL e col., 1980). Os ésteres de colesterol transferidos para estas lipoproteínas são entregues ao fígado pelo próprio catabolismo das partículas. Os triglicérides recebidos pela HDL, em troca, tornam-se substrato para a lipase hepática (LH), enzima presente nas células endoteliais dos capilares hepáticos. Esta enzima atua como pelos triglicérides da HDL do que a lipase de lipoproteína (LLP) (PATSCHE e col, 1984). Após a interação com a LH, a HDL retorna mais disponível para o ciclo de remoção tecidual de colesterol. (EISENBERG e col., 1984). A HDL desempenha também a importante função de doar apolipoproteínas para as lipoproteínas ricas em triglicérides, necessárias ao metabolismo das mesmas. Além do importante função no transporte reverso do colesterol, a HDL também está envolvida com proteção da função endotelial e mecanismos de proteção contra processos oxidativos de lipoproteínas.

Lp(a):

A Lp(a), foi descrita pela primeira vez por Berg em 1963 (BERG, 1963), como uma variante genética da LDL; é estruturalmente semelhante à LDL, tendo porém uma apolipoproteína extra, a apo(a), além da apo B-100. Todas as diferenças físico-químicas entre a Lp(a) e a LDL são atribuídas à presença da apo(a). A Lp(a) é sintetizada pelo fígado e em parte é removida da circulação sanguínea pelos receptores B/E, não se conhecendo outras vias de sua catabolização. Os caminhos metabólicos da Lp(a) são, no entanto, totalmente independentes da LDL.

A apo(a) é um análogo estrutural do plasminogênio, zimogênio da plasmina que é a enzima chave do sistema fibrinolítico. Devido à essa analogia, a Lp(a) pode competir com o plasminogênio por receptores específicos na superfície endotelial e na fibrina, inibindo a ativação do plasminogênio à plasmina pelo ativador tecidual do plasminogênio (t-PA), criando um estado pró-trombótico (McLEAN e col., 1987). Até agora, não foi descoberto nenhum papel fisiológico desta lipoproteína no transporte de lípidos. Sabe-se que, quando seus níveis plasmáticos estão aumentados, o risco de desenvolvimento da doença arterial coronária (DAC) se torna maior (DAHLÉN, 1988).

Esta correlação que existe nas raças caucasiana e amarela, não prevalece na raça negra (MARANHÃO e col., 1995).

1.2.1.2 Transporte exógeno

A via exógena constitui o transporte na circulação dos lípidos ingeridos pela dieta e absorvidos pelo trato intestinal (GOLDSTEIN e col., 1983; REDGRAVE e col., 1983).

Pela sua natureza geralmente hidrofóbica, os lípidos requerem processos complexos para sua digestão e absorção, que incluem a solubilização de seus produtos de hidrólise. A digestão dos lípidos tem início no estômago pelas lipases lingual e gástrica, que catalisam a hidrólise preferencialmente dos triglicérides de cadeia curta e média. A lipase lingual pode até digerir 30% dos triglicérides da dieta e a lipase gástrica tem pouca expressão, ganhando importância somente em casos de insuficiência pancreática. A maior parte da digestão das gorduras é realizada no duodeno, através da ação da lipase pancreática, que hidroliza os triglicérides de cadeia longa.

Os fosfolípidos e ésteres de colesterol são também hidrolisados no intestino pela ação das enzimas fosfolipase A₂ e colesterol esterase, respectivamente. A interação dos produtos de digestão lipídica (PDL) com quantidades apropriadas de ácidos biliares resulta na formação de misturas, favorecendo a aproximação e entrada dos lípidos nas células absorptivas da mucosa intestinal (LEVY e col., 1992; TSO e col., 1991). Os sais biliares são essenciais para a digestão e absorção dos lípidos. Nas células absorptivas da mucosa intestinal, devido ao baixo pH, os PDL destacam-se das misturas de sais biliares e difundem-se através da membrana da borda em escova, por absorção passiva. Durante a entrada nas células, moléculas de monoglicérides originada da hidrólise de triglicérides, são hidrolisadas a ácidos graxos e glicerol pela ação da lipase entérica. A translocação dos PDL até o retículo endoplasmático é mediada por uma proteína ligadora de ácido graxo, que estimula o primeiro passo de re-síntese intracelular de triglicérides. No retículo endoplasmático liso, através de ação enzimática, os PDL são reesterificados, formando novamente triglicérides, colesterol esterificado e fosfolípidos. Os lípidos formados migram do retículo endoplasmático liso até o retículo endoplasmático rugoso, onde dão origem as partículas denominadas pré-quilomícrons após a incorporação das apolipoproteínas B-48, A-I, A-II e

AIV. Os pré-quilomícrons são transportados até o aparelho de Golgi, onde ocorre o processamento final dos quilomícrons. As vesículas secretoras do aparelho de Golgi, contendo os quilomícrons, são então transportadas até um sítio próximo à membrana lateral de onde são secretadas para o espaço intersticial das vilosidades, através de um processo denominado exocitose ou pinocitose reversa (LEVY e col., 1992).

Os pré-quilomícrons contém fosfolipases A e B e lipases de triglicérides, as quais devem atuar na fusão das membranas possibilitando a liberação das partículas de quilomícrons, na linfa mesentérica (LEVY e col., 1992; TSO e col., 1991; THOMSON e col., 1989). Os quilomícrons recém sintetizados são partículas esféricas (75 a 1200nm de diâmetro) apresentando, em seu interior, triglicérides que constituem cerca de 80 a 95% da partícula, além de ésteres de colesterol (2 a 4 %). Na camada superficial que nestas lipoproteínas ocupa um volume pequeno em relação ao núcleo estão os fosfolípidos (3 a 6%) e o colesterol livre (1 a 3 %), além das apolipoproteínas (após A e B, 1% a 2%) (REDGRAVE, 1983) (**Figura 2**). Embora constituam pequena percentagem do peso total da partícula, a maioria das apolipoproteínas plasmáticas conhecidas está presente no quilomícron. Predominam as após A-I (30 a 40%), CI, C-II e C-III (30 a 40%) com menores quantidades de apo E, A-IV e B-48 (10 a 20% das proteínas totais) (REDGRAVE e col., 1983). A apo B-48, especificamente sintetizada pela célula absorviva da mucosa intestinal (KANE e col., 1980), constitui menos de 5% da proteína total. No entanto, esta apo desempenha papel importante na estruturação do Quilomícron, no seu transporte intracelular e na sua liberação pela célula absorviva da mucosa intestinal. Além disso, a apo B-48 permanece no Quilomícron durante todo o seu percurso na linfa e no plasma sangüíneo (SHAEFER e col., 1978; REDGRAVE e col., 1983).

Ao ganharem a circulação sistêmica, através do duto torácico, os quilomícrons sofrem intenso catabolismo. As trocas de componentes de superfície continuam ocorrendo, principalmente com a HDL. Simultaneamente, os triglicérides, transportados no interior do quilomícron, são hidrolisados pela lipase de lipoproteína, num processo denominado lipólise (QUINN e col. 1982). A lipase de lipoproteína apresenta uma especificidade pelas posições 1 e 3 da molécula de triglicéride, produzindo 2-monoacilglicerol e ácidos graxos livres (MORLEY e col., 1975) e também atua sobre a posição primária dos fosfolípidos, mas este efeito é muito discreto (SCOW e col., 1976). Os ácidos graxos livres resultantes deste processo podem ser utilizados pelas células ou

transportados, na corrente sangüínea para o fígado, ligados à albumina (REDGRAVE e col., 1983).

A hidrólise dos triglicérides do quilomícrom é interrompida quando cerca de 70 % a 90 % dos triglicérides são removidos (REDGRAVE e col, 1983). Sugere-se que ao aumento do conteúdo de colesterol livre na superfície lipídica diminua a interação dos quilomícrons com a lipase de lipoproteína (LLP). Esta hipótese coincide com os achados de Fielding (FIELDING e col, 1970), e Maranhão (MARANHÃO e col, 1986). Estes últimos demonstraram que a elevação do conteúdo de colesterol na partícula inibe a lipólise de triglicérides em emulsões artificiais semelhantes aos quilomícrons.

Como vimos, a apo C-II, presente na superfície do quilomícrom, atua como co-fator da lipase de lipoproteína (LLP) (SCHAEFER e col, 1978; KRAUSS e col, 1973), enquanto que a apoC-III inibe a ação desta enzima (SCHAEFER e col, 1978; BROWN e col, 1972). Na deficiência de apo C-II, o metabolismo do quilomícrom encontra-se prejudicado pela diminuição da lipólise, causando hiperquilomicronemia (GOTTO, 1988). Tal como descrito anteriormente, o catabolismo intravascular do quilomícrom é um processo bifásico, envolvendo a hidrólise dos triglicérides do quilomícrom pela lipase de lipoproteína, estimulada pela apo CII, e a captação dos remanescentes, principalmente pelo fígado, por meio de receptores. É importante notar que a via de catabolização intravascular dos quilomícrons é compartilhada pela VLDL. A mesma enzima, a lipase de lipoproteína, catalisa a lipólise tanto dos quilomícrons como das VLDL. O receptor da LDL efetua a remoção da lipoproteína de densidade intermediária (IDL) e da LDL, produtos de degradação da VLDL, e também está envolvido na remoção dos remanescentes de quilomícrom (HUSSAIN, e col., 1996; GOLDBERG, 1996; COOPER, 1997; MAHLEY e col., 1999).

1.2.1.3 Captação dos remanescentes de quilomícrons

Os remanescentes de quilomícrons são, portanto, lipoproteínas formadas no espaço intravascular de tecidos extra-hepáticos como resultado do catabolismo dos quilomícrons pela ação da LLP. As principais transformações sofridas pelos quilomícrons no processo catabólico consistem de perda de 85% do conteúdo de triglicérides, perda de apo A-I e apos C e aquisição de apo E (COOPER e col., 1997). Os remanescentes são

rapidamente removidos da circulação sanguínea pelo fígado através de receptores específicos que reconhecem sua apo E (COOPER e col., 1997). Após a ligação ao receptor, ocorre a captação da partícula pelas células hepáticas, através de endocitose. Os remanescentes transportam para o fígado o colesterol plasmático de origem da dieta, que pode ser utilizado na síntese de membranas celulares, na síntese de outras lipoproteínas de origem hepática ou ser excretado na bile, na forma de ácidos biliares (BROWN e col., 1981).

No fígado, apenas o remanescente consegue chegar até o hepatócito, enquanto que o quilomícrom permanece no lúmen sinusoidal e pode ser fagocitado pelas células de Kupffer ou atravessar o fígado. O remanescente atravessa as fenestrações entre as células endoteliais que contornam os sinusóides hepáticos, passando para o espaço de Disse, que corresponde ao espaço entre o endotélio e o hepatócito. **(Figura 3)**

No espaço de Disse, o remanescente pode:

- Ser removido através dos receptores de LDL (receptores B/E), através de endocitose, processo independente, porém facilitado pela apo E e pela Lipase Hepática (LH) (CHOI e col., 1994).
- Adquirir mais apoE secretada livre no espaço de Disse e ser captado pela proteína relacionada com o receptor de LDL (LRP), que parece ser específica somente para a apo E (COOPER e col., 1997).
- Permanecer seqüestrado no espaço de Disse. Quando os receptores de LDL encontram-se diminuídos por mecanismo de regulação, saturados ou ausentes, os remanescentes permanecem seqüestrados no espaço de Disse, através de interações entre a apo E e o Sulfato de Heparan (SH) e entre a apo B e a LH (HERZ e col., 1995).
- Outro receptor que pode estar envolvido com a captação de remanescentes é o receptor estimulado pela lipólise (LSR) (BIHAIN e col., 1998). Na presença de ácidos graxos livres o LSR reconhece tanto a apo B como a apo E como consequência leva à captação e degradação das lipoproteínas. O LSR apresenta maior afinidade por lipoproteínas ricas em triglicérides, portando pode estar relacionado com a captação celular de partículas maiores.

Após a captação dos remanescentes pelas células hepáticas, o colesterol derivado do catabolismo dessas partículas pode suprimir a expressão de receptores de LDL e desta maneira, influenciar nas concentrações plasmáticas de LDL-C.

O acúmulo de quilomícrons na circulação sanguínea pode ser causado por uma deficiência na atividade da LLP ou por deficiência da apo CII. Concentrações aumentadas de quilomícrons levam a uma maior transferência de triglicérides para as HDL e conseqüentemente ocorre uma maior transferência de colesterol esterificado da HDL para os quilomícrons (BARTER e col., 1987). Desta maneira, a HDL mais rica em triglicérides não se encontra tão disponível para a remoção tecidual do colesterol prejudicando seu transporte anti-aterogênico, o transporte reverso de colesterol.

O acúmulo de remanescentes na circulação sistêmica pode ser causado por deficiência de receptores na superfície das células hepáticas ou por deficiência funcional da apo E presente nessas lipoproteínas. O maior tempo de permanência dos remanescentes na circulação pode levar à deposição de colesterol na parede arterial, o que pode colaborar com o processo aterogênico (MAMO e col., 1994).

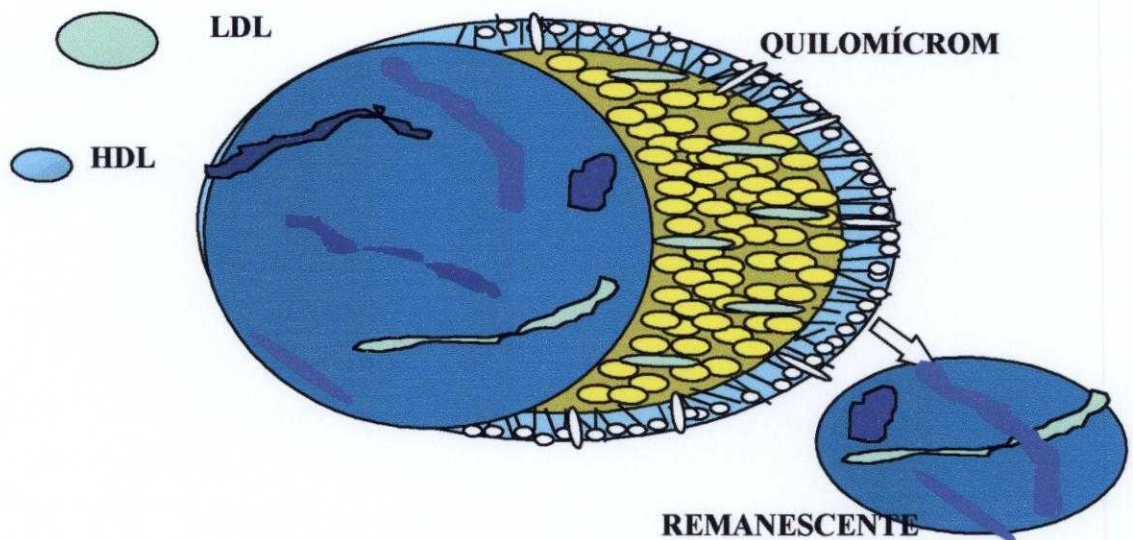


Figura 2 Estrutura esquematizada do quilomícrom

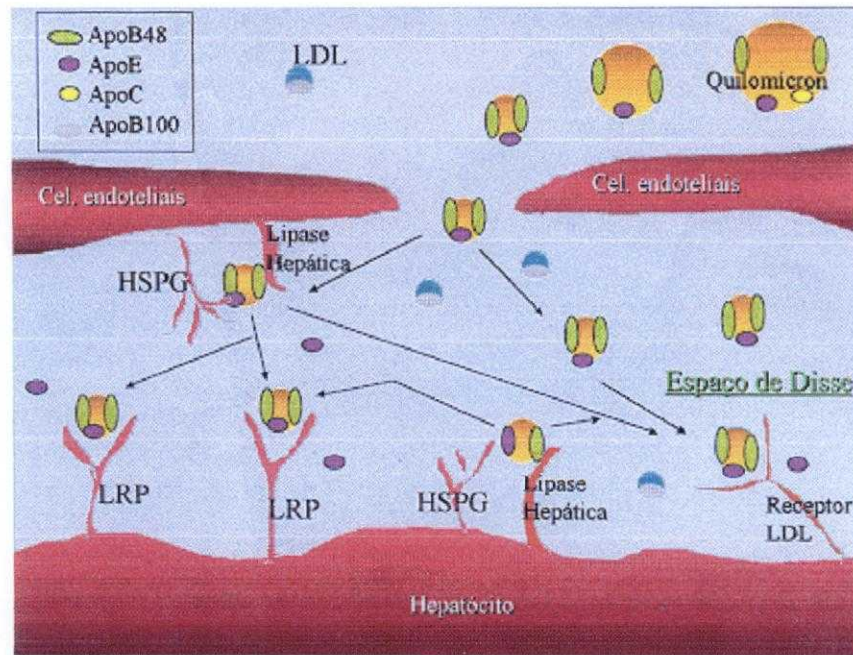


Figura 3 Captação do remanescente de quilomícrom pelo fígado

1.2 Metodologia para Avaliar a Cinética do Quilomícrom

Nos grandes estudos epidemiológicos que estabeleceram a relação entre as lipoproteínas plasmáticas e o desenvolvimento da aterosclerose, os quilomícrons e seus remanescentes deixaram de ser avaliados pela falta de método suficientemente prático e simples (CASTELLI e col., 1986 ; GOTTO e col., 1990). Diferentemente das outras lipoproteínas, que são avaliadas por determinação de seus lípidos e apolipoproteínas no plasma de indivíduos em jejum, o estudo do metabolismo dos quilomícrons no homem não é tão simples. Já concentração de quilomícrons depende das taxas de absorção intestinal, que variam grandemente entre os indivíduos. Enquanto o processo de absorção perdura por horas, os remanescentes de quilomícrons são rapidamente captados pelo fígado e seus lípidos começam a recircular no meio plasmático incorporados à VLDL recém-sintetizada. Em razão de suas características físicas, não é possível separar com confiabilidade pequenos quilomícrons, remanescentes de quilomícrons e a VLDL das amostras plasmáticas. A separação por ultracentrifugação é dificultada porque a densidade do remanescente de quilomícrom se sobrepõe à dos quilomícrons e VLDL. A cromatografia

também é ineficaz porque o diâmetro do remanescente de quilomícrom é próximo ao dos quilomícrons e VLDL. Remanescentes parecem não conter sequer um único componente que permita sua separação por cromatografia ou eletroforese. Felts (FELTS e col., 1987) descreveu separação por cromatografia de troca iônica em meio seletivo. No entanto, o procedimento é laborioso, requerendo ultracentrifugação inicial pra remover a albumina e outras lipoproteínas séricas.

Na década de 60, Nestel et al (NESTEL e col., 1962), estudaram em seres humanos a remoção dos triglicérides dos quilomícrons pela medida da remoção de carga de quilomícrons injetados endovenosamente. Esta técnica envolve a administração endovenosa de quilomícrons isolados da linfa do duto torácico após a ingestão de uma refeição gordurosa contendo ³H-ácido palmítico. Seu uso foi limitado por motivos práticos. Em alguns estudos em seres humanos, a remoção dos triglicérides dos quilomícrons foi avaliada por métodos indiretos, como o teste oral (COHEN, 1989.; ANGERVALL 1964 e COHEN, 1988) ou o teste endovenoso (COHEN, 1989.; HALLBERG, 1965 e ROSSNER, 1974) de tolerância à gordura, que não estimam quantitativamente a remoção dos triglicérides do quilomícrom.

O teste oral de tolerância à gordura baseia-se na suposição de que a magnitude da trigliceridemia que se segue à ingestão de uma refeição gordurosa (lipemia pós-prandial) é inversamente relacionada à taxa de remoção dos triglicérides dos quilomícrons. Esta suposição é sustentada pelo trabalho de Nestel. Desta forma no teste oral de tolerância à gordura, a lipemia pós-prandial é considerada análoga à meia-vida dos triglicérides dos quilomícrons. No entanto, neste procedimento, não são controlados vários e complexos processos como a taxa de absorção de triglicérides no trato intestinal, seu influxo na circulação, o possível surgimento de triglicérides endógenos e a taxa de formação dos quilomícrons. Assim, a remoção dos triglicérides dos quilomícrons não pode ser quantitativamente determinada por este método.

Na década de 70, Grundy e Mok (GRUNDY e MOK, 1976) desenvolveram método baseado na perfusão duodenal de gordura. Neste, a remoção de triglicérides, em seres humanos, pode ser calculada a partir das concentrações dos triglicérides dos quilomícrons em equilíbrio dinâmico (steady state) no plasma. Esta condição é alcançada pela perfusão duodenal de triglicérides em nível constante. O método considera a taxa de entrada de quilomícrons na corrente sangüínea igual à taxa de influxo dos triglicérides perfundidos no duodeno. Embora estas suposições ainda não tenham sido comprovadas, a

remoção calculada para os quilomícrons é similar àquela obtida por Nestel, a partir da injeção endovenosa destas partículas. O método fornece apenas informação indireta da remoção do remanescente de quilomícron porque a maior parte dos triglicérides do quilomícron é depurada pela lipase de lipoproteína. Além do mais, o procedimento é laborioso e implica grande desconforto para o indivíduo estudado.

Atualmente, muitos estudos que avaliam o metabolismo dos quilomícrons no homem utilizam o método da ingestão de uma refeição-teste contendo vitamina A (retinol) (BERR, 1992; PATSCH e col, 1992 ; SIMPSON e col., 1990 ; CARA e col., 1992 ; KRASINSKI e col., 1990 e ROSSNER, 1974). Como o colesterol, o retinol é esterificado na mucosa intestinal com ácidos graxos de cadeia longa (por exemplo, ácido palmítico) e secretado na linfa intestinal no núcleo hidrofóbico dos quilomícrons. Neste método, o palmitato de retinol é usado como marcador de lipoproteína . Assim, considera-se que a determinação da sua concentração plasmática durante o período pós-prandial reflita o aparecimento e o desaparecimento dos quilomícrons e seus remanescentes na circulação (HAZZARD e col., 1976). O plasma pode ser centrifugado para obtenção da fração rica em quilomícrons ($d < 1,006\text{g/L}$) e rica em remanescentes de quilomícrons ($d > 1,006\text{g/L}$) (BERR, 1992).

Todos os resultados obtidos com o método da ingestão de refeição-teste contendo vitamina A têm limitações na sua interpretação, porque os dados plasmáticos são afetados não somente pela remoção, mas também pela cinética de absorção do palmitato de retinol do lúmen intestinal. Esta última pode durar várias horas com taxas que variam amplamente entre os indivíduos. Além disso, a curva do palmitato de retinol é composta de uma componente ascendente e um descendente (GROOT e col., 1991), mas ambas são resultantes de dois processos opostos que ocorrem simultaneamente, a absorção intestinal e a remoção hepática. Conseqüentemente, a interpretação da curva é dificultada.. Assim, defeitos no metabolismo do quilomícron, que possam envolver os mecanismos de remoção ao invés dos de absorção intestinal, podem não ser evidenciados. Há também dúvidas sobre a adequação dos ésteres de retinol como marcadores de remanescente de quilomícron, pois foi verificado que eles se transferem em boa parte para a LDL, principalmente a partir de 9 horas após a ingestão da refeição-teste (KRASINSKI e col., 1990). Disto resulta perda de especificidade do método. Quando a fração plasmática rica em quilomícrons e seus remanescentes contendo ésteres de retinol é isolada e reinjetada em plasma autólogo para medida da taxa de remoção plasmática, não ocorre troca apreciável do éster de retinol com

outras frações de lipoproteínas, e o problema da absorção intestinal é evitado (BEER E KERN, 1984; BERR e col., 1985). No entanto, a emulsão administrada constitui mistura heterogênea que inclui partículas parcialmente metabolizadas e remanescentes de quilomícrons. Acima de tudo, porém, o método não é prático, sendo totalmente inadequado a sua aplicação na rotina laboratorial.

Uma outra abordagem consiste na utilização de testes endovenosos com emulsões artificiais de gordura que possam ser empregadas como substitutos dos quilomícrons naturais para o estudo do seu metabolismo em seres humanos. Estes testes tem a vantagem de ultrapassar as etapas de absorção dos triglicérides e formação dos quilomícrons. Como exemplo, podemos citar o teste endovenoso de tolerância à gordura. Neste procedimento é utilizada emulsão artificial do tipo Intralipid®, empregada rotineiramente na nutrição parenteral, para avaliar a cinética do decaimento endovenoso dos triglicérides (HALBERG, 1965; ROSSNER, 1984). Esta emulsão apresentou comportamento cinético qualitativamente similar ao dos triglicérides de quilomícrons naturais. No entanto, este teste não fornece informação sobre a remoção do remanescente. Além disso, a emulsão injetada não contém um marcador para os remanescentes; tampouco contém colesterol e, portanto, a remoção fisiológica é impossível. Mesmo assim, este teste continua a ser utilizado para estudos do metabolismo do triglicéride plasmático (COHEN, 1989).

Redgrave e Maranhão (REDGRAVE E MARANHÃO, 1985) desenvolveram emulsão artificial de estrutura e composição lipídica semelhante à dos quilomícrons da linfa. A emulsão é composta de trioleína (69%), lecitina (23%), oleato de colesterol (6%) e colesterol (2%). Seu comportamento metabólico é semelhante ao dos quilomícrons naturais (MARANHÃO e col., 1986; HIRATA e col., 1987 e OLIVEIRA e col., 1988). O campo de estudo utilizando este modelo de emulsões artificiais é muito amplo.

Os quilomícrons artificiais consistem numa emulsão lipídica, sem apolipoproteína, o que pode ser aparente contradição porque, conforme anteriormente mencionado, os componentes protéicos são de fundamental importância na modulação do seu metabolismo, assim como das outras classes de lipoproteínas. No entanto, em experimentos *in vitro* Redgrave e Maranhão demonstraram que, em contato com o plasma, apolipoproteínas das lipoproteínas plasmáticas são transferidas para as partículas da emulsão que, assim, adquirem toda a gama de apolipoproteínas existentes no quilomícrom

natural única exceção é a apo B, que é pouco solúvel, portanto não passível de troca entre as partículas. No entanto a apo B-48, que é essencial para a síntese do quilomícrom pela célula absorptiva da mucosa intestinal, não participa de nenhum processo metabólico importante, tanto no compartimento intravascular quanto na captação da partícula pela célula parenquimatosa hepática (SHAEFER e col., 1978). Uma vez provido da apo CII, o quilomícrom artificial sofre a ação da lipase de lipoproteína, quando injetado no meio plasmático, conforme demonstrado em ratos (HIRATA e col., 1987). Isto resulta em hidrólise da maior parte dos seus triglicérides e geração de partícula remanescente, A presença da apo E, adsorvida a esta partícula, possibilita a sua captação, principalmente pelo fígado, através de receptores específicos que reconhecem a apo E. Portanto, os triglicérides são removidos das partículas durante a lipólise, enquanto os éster de colesterol tende a permanecer nelas até sua remoção final, Isto se reflete em remoção plasmática do componente triglicéride mais rápida que a do éster de colesterol (REDGRAVE E MARANHÃO, 1985).

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Considerando a importância e a participação dos quilomícrons e seus remanescentes no processo aterogênico, particularmente na gênese da doença arterial coronária (DAC), o objetivo do presente trabalho é avaliar o metabolismo dessas lipoproteínas em pacientes portadores de DAC, confirmada por cinecoronariografia.

Para atingirmos esse objetivo, foi investigado a remoção plasmática do éster de colesterol marcado com Carbono (^{14}C) e dos triglicérides marcados com trício (^3H) da emulsão de quilomícrons artificiais após injeção endovenosa em pacientes portadores de DAC e foram analisadas as curvas de decaimento lipídico radioativo.

3. CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS

3. CASUÍSTICA , MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Casuística

Foram selecionados pacientes do Ambulatório do Grupo de Coronária do InCor-HC Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, portadores de doença arterial coronária (DAC), confirmada pela cinecoronariografia (CCG). Para o grupo controle foram selecionados pacientes que por apresentarem dados sugestivos de DAC, foram submetidos a cinecoronariografia , porém não apresentaram lesões coronárias obstrutivas .

Grupo de Doença Arterial Coronária (DAC): 51 pacientes, com média de idade 59 ± 10 anos, faixa etária variando de 40 a 81anos, 38 do sexo masculino e 13 do sexo feminino.

Grupo Controle (C): 58 pacientes, média de idade 57 ± 10 anos, faixa etária variando de 40 a 74 anos, 20 do sexo masculino e 38 do sexo feminino.

A extensão de doença arterial coronária foi avaliada através de um escore obtido pela soma das obstruções observadas nas artérias coronárias principais e seus ramos.

Os dados dos pacientes foram obtidos através de um questionário padrão que nos forneceu as seguintes informações: idade, uso de medicamentos, histórico de diabete mellitus, hipertensão arterial, etilismo, tabagismo, vida sedentária, antecedentes familiares de doença arterial coronária e relato de sintomas relacionados a coronariopatia.

As características dos indivíduos dos grupos DAC e Controle estão descritas na **Tabela 4.**

A avaliação da constituição individual foi realizada através do Índice de Massa Corpórea (IMC), calculado pela seguinte equação: $IMC = \text{Peso (kg)} / [\text{Altura (m)}]^2$

A classificação segundo os valores de IMC foi feita de acordo com a proposta por James (1988), e está descrita na **Tabela 5**.

Tabela 4 – Características dos pacientes do Grupo DAC (n=51) do Grupo Controle (C) (n=58).com média e desvio padrão.

	DAC (n = 51)	CONTROLE (n =58)
Sexo	M = 38 F = 13	M = 20 F = 38
Idade (anos)	59 ± 10	57 ± 10
Cor	B = 55 N = 6	B = 49 N = 9
IMC (Kg/m ²)	22 ± 3	22 ± 4

Abreviaturas: M=masculino F=feminino; B=branca; N=negra
IMC=índice de massa corpórea.

Tabela 5 – Classificação de acordo com o Índice de Massa Corpórea (IMC)

IMC	CLASSIFICAÇÃO
< 17	Baixo peso
17 – 25	Normal
21 – 30	Sobrepeso
30 – 40	Obesidade
> 40	Obesidade mórbida

3.2 Material

3.2.1 Material utilizado no preparo da emulsão lipídica artificial

Os lipídeos puros, trioleína, colesterol, colesterol oleato e fosfatidilcolina (lecitina de ovo) foram adquiridos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA). Os isótopos radioativos, glicerol tri [9,10 (n) – ^3H] oleato ($^3\text{H-TG}$) e colesteril [1-14] oleato ($^{14}\text{C-CE}$) foram obtidos da Amersham International (Amersham, Reino Unido).

As emulsões foram preparadas através de irradiação ultrassônica em meio aquoso salino, utilizando-se disruptor de células, Branson Cell Disruptor (Branson Ultrasonics Corp, mod .B450) As emulsões obtidas foram submetidas a duas etapas de ultracentrifugação, utilizando-se ultracentrífuga da marca Sorvall rotor TH641 modelo OTD Comb, Wilmington, EUA . Após o preparo, a emulsão foi esterilizada em filtros da marca Millipore , SP de porosidade de 0,22 μ ..

3.2.2 Materiais utilizados nos estudos cinéticos

As amostras de sangue foram centrifugadas em centrífuga da marca Sorvall modelo RT7, Wilmington, EUA. A radioatividade presente em alíquotas do plasma é determinada em solução de cintilação PPO:DM-POPOP (TritonX-100: Tolueno; 5g:0,5g:333ml:667ml), marca Merck, Rio de Janeiro, Brasil usando um Beta-contador marca Packard, modelo 1660TR, EUA. A heparina sódica (Liquemine) utilizada como anticoagulante nas amostras colhidas dos participantes do estudo foi obtida do Laboratório Roche.

3.2.3 Materiais utilizados nas dosagens bioquímicas

O Colesterol sérico total e triglicérides foram dosadas pelos métodos enzimáticos (Roche Laboratories, Basel, Switzerland).

O Colesterol de HDL foi determinado pelo mesmo método utilizado para o colesterol total, após precipitação química das lipoproteínas que contém apolipoproteína B, utilizando-se reagente precipitante constituído por cloreto de magnésio e ácido fosfotúngstico.

As apolipoproteínas A₁ e B são determinadas pelo método de imunodifusão radial simples, respectivamente com as placas Lipo-PartigenR-Apo A₁ e Nor-Partigen R da Hoescht-Behring (Rueli-Malmaison, França). Todo o perfil lipídico exceto as apolipoproteínas foram realizadas automaticamente no analisador COBAS-MIRA (Roche Laboratories, Basel, Switzerland)

3.3 Métodos

3.3.1 Cinecoronariografia (CCG)

A cinecoronariografia (CCG) é o exame definitivo para se estabelecer o diagnóstico de aterosclerose obstrutiva da coronária; também permite avaliar a função ventricular. Deve ser indicada quando se tem razoável suspeita de doença coronária, para esclarecimento de dores precordiais de possível origem isquêmica, para se estabelecer o prognóstico, e sempre que se considerar que alguma forma de intervenção seja por cateter ou cirurgia, possa ser contemplada. Nunca é demais salientar que se trata de exame invasivo, que apesar de ser de baixo risco, podem ocorrer complicações graves como embolias sistêmicas, dissecções arteriais, fibrilação ventricular e morte. A partir dos estudos que relacionaram o grau de estenose com o desencadeamento de isquemia demonstrou-se que lesões a partir de 70% correlacionaram-se com a redução da reserva de fluxo coronário. Além disso, certas características das lesões podem ser apreciadas. Segundo Ambrose (AMBROSE e col., 1988) , as lesões podem ser concêntricas,

excêntricas do tipo I (estreitamento assimétrico com bordas lisas e pescoço largo) e excêntricas do tipo II (assimétrica com pescoço estreito ou bordas irregulares ou ambos). As lesões mais encontradas em pacientes com angina instável são as excêntricas do tipo II, estas, portanto, são lesões mais propensas à instabilização. A presença de lesão >50% em tronco ou a presença de lesões proximais >70 nos três ramos principais, essas últimas na presença de disfunção sistólica do Ventrículo Esquerdo, são indicadores de pior prognóstico com o tratamento clínico isolado.

Contribuições importantes para a compreensão da fisiopatologia da doença coronária foram os estudos da vasomotricidade coronária dependente do endotélio observada durante a coronariografia. Assim, documentou-se vasoconstricção paradoxal, após a administração de acetilcolina, em segmentos com estenose e pré-estenótico, com irregularidades ou angiograficamente normais em portadores de aterosclerose coronária.

3.3.2 Preparo da emulsão artificial de quilomícrons

Uma mistura de lípides é seca através de fluxo de nitrogênio na composição que se segue: 2% de colesterol, 23% de lecitina, 6% de oleato de colesterol e 69 % de trioleína (Lípides Frios) juntamente com os lípides radioativos **colesteril [1-¹⁴C] oleato e glicerol tri [9,10(n)-³H] oleato**. A mistura foi mantida durante 12 horas em dessecador à vácuo para completa evaporação dos solventes orgânicos residuais Acrescentou-se à mistura já evaporada, 6.0 ml de solução salina densidade 1,101 g/ml, pH 7,0.

As emulsões foram preparadas através de irradiação ultrassônica das misturas em meio aquoso salino, utilizando-se disruptor de células, durante 40 minutos com uma potência de 70-80 watts, sob fluxo de nitrogênio em uma temperatura que varia de 50-55°C. As emulsões obtidas foram submetidas a duas etapas de ultracentrifugação em gradiente descontínuo de densidade, para purificação, ou seja obtenção de partículas homogêneas, com a densidade e o tamanho desejados. Na primeira etapa, acrescentou-se ao volume das emulsões obtidas por irradiação ultrassônica, soluções salinas com densidades 1,065 g/ml, 1,020 g/ml e 1,006 g/ml, nesta ordem. As emulsões foram centrifugadas a 12.000 rotações por minuto, a 22°C por 15 minutos. Ao término da ultracentrifugação, foram desprezados 0,5 ml do sobrenadante e o restante do volume foi submetido a segunda etapa de purificação ,através de ultracentrifugação a 36.000 rpm ,a

mesma temperatura durante 25 minutos. Após o término da ultracentrifugação foram retirados 3,0 ml do sobrenadante contendo a fração das partículas utilizadas no estudo, e foi submetida à esterilização em filtros com poros de 0,22 μ de diâmetro e armazenada em frasco estéril, à temperatura ambiente.

3.3.3 Protocolo experimental

3.3.3.1 Determinação do perfil lipídico

O perfil lipídico é definido pelas determinações do colesterol total (CT), e suas frações como: colesterol contido nas HDL (HDL-C), do colesterol contido nas LDL (LDL-C), e do colesterol contido nas VLDL (VLDL-C), e os triglicérides plasmáticos (TG). As dosagens de CT e TG foram determinadas pelos métodos enzimáticos.

O Colesterol de HDL foi determinado pelo mesmo método do colesterol total, após precipitação das lipoproteínas contendo apolipoproteína B, utilizando-se agente precipitante como o cloreto de magnésio e ácido fosfotúngstico. O valor do Colesterol de LDL foi calculado pela diferença entre colesterol total e a somatória do colesterol de HDL e colesterol de VLDL. O colesterol de VLDL foi calculada pela divisão da concentração dos triglicérides por 5. As apolipoproteínas A1 e B são determinadas pelo método de imunodifusão radial simples. Todo o perfil lipídico exceto as apolipoproteínas foram realizadas automaticamente no analisador COBAS-MIRA (Roche Laboratories, Basel, Switzerland)

3.3.3.2 Estudos cinéticos

A emulsão de quilomícom artificial é injetada endovenosamente em pacientes que estão em jejum por 12 horas. Os pacientes foram submetidos à cateterização venosa, mantida com soro fisiológico (0,9%). Após a coleta da amostra basal de sangue total para determinação do perfil bioquímico, foram injetados 100 μ l da emulsão artificial contendo 148 kBq (4 μ Ci) de ^3H e 74 kBq (2 μ Ci) de ^{14}C .

Amostras de sangue são coletadas em intervalos regulares pré-estabelecidos (2,4,6,10,15,20,30,45 e 60 minutos), mantendo-se a cateterização venosa em soro fisiológico. A radioatividade presente em alíquotas do plasma é determinada em solução de cintilação usando um Beta-contador a taxa fracional de remoção (TFR) dos lipídeos é calculada através do estudo de Análise Compartimental que foi realizada de acordo com o modelo proposto por Redgrave e Zech (REDGRAVE e col., 1987). Tal como descrito anteriormente, o catabolismo intravascular do quilomícrom é um processo bifásico, envolvendo a hidrólise dos triglicérides do quilomícrom pela lipase da lipoproteína e a captação dos remanescentes, principalmente pelo fígado, por meio de receptores. Foram analisadas as amostras do grupo DAC e do grupo Controle. As contagens da radioatividade obtidas foram utilizadas para o cálculo de decaimento plasmático e dos parâmetros dos componentes marcados na emulsão.

A dose radiológica injetada foi avaliada de acordo com as normas da “International Commission on Radiological Protection” (ICRP) (SOWBY, 1985). O parâmetro “Annual Limit for Intake”(ALI) de radionuclídeo é definido como a quantidade de radioisótopo que induz a uma dose equivalente de 50 mSv. Para componentes orgânicos marcados com ^{14}C ou ^3H , os valores de ALI são 9×10^7 e 3×10^9 Bq, respectivamente. No presente estudo, a dose injetada de ^{14}C foi de $22,2 \times 10^4$ Bq, o que equivale a $22,2 \times 10^4$ Bq / 9×10^7 Bq) \times 50mSv = 0,1233 mSv. Para o ^3H , a dose injetada será de $44,4 \times 10^4$ Bq, portanto a dose equivale a $(44,4 \times 10^4$ Bq / 3×10^9 Bq) \times 50 mSv=0,0074 mSv.

A dose equivalente incorporada no corpo inteiro em consequência da exposição aos lípidos radioativos foi estimada em 0,04 mSv, conforme avaliado pelo método MIRD – Medical Internal Radiological Dosimetry (SMITH, 1977). Em conformidade com as normas de proteção radiológica (Comissão Nacional de Energia Nuclear, 1988), este valor é muito inferior ao máximo permitido. A dose de radiação induzida pela injeção dos radioisótopos é menor que a obtida com a maioria dos procedimentos radiológicos, sendo cerca de 10 vezes menor que a dose induzida por uma radiografia de crânio.

3.3.3.3 Análise dos dados cinéticos

Foi utilizado o modelo de análise compartimental do programa computacional AnaComp versão 4.1, desenvolvido por Mesquita (MESQUITA, 1994), para a análise de cinética de emulsões. A cinética da emulsão foi avaliada através das remoções plasmáticas de seus componentes lipídicos radioativos, pelo fato dos mesmos apresentarem cinéticas diferentes.

Assim, como no metabolismo dos quilomícrons naturais, os triglicérides da emulsão são hidrolisados durante o metabolismo, enquanto que o éster de colesterol permanece no interior da partícula até a captação da mesma pelo fígado (**Figura 4**). A curva de remoção plasmática dos ^3H -triglicérides ($^3\text{H-TG}$) representa a cinética das moléculas de triglicérides. Embora a curva apresente as mesmas características da curva de remoção do $^{14}\text{C-CE}$, o seu decaimento é mais rápido devido à ação da lipase de lipoproteína. A cinética do $^3\text{H-TG}$ é representada por três compartimentos: os triglicérides na partícula, tal como foi injetada na circulação sanguínea (compartimento 3), as partículas remanescentes (compartimento 4) e os ácidos graxos livres, derivados da hidrólise dos triglicérides (compartimento 5).

A curva de remoção plasmática do $^{14}\text{C-CE}$ reflete a cinética do colesterol esterificado e apresenta um perfil biexponencial com um rápido decaimento inicial seguido de outro mais lento. Esse perfil levou à adoção de um modelo com dois compartimentos que representam o colesterol esterificado dos quilomícrons no espaço intravascular, tal como foi injetado (compartimento 1) ou na partícula remanescente, resultante do processo de lipólise (compartimento 2).

Para representar a remoção das partículas foram utilizados os parâmetros denominadas taxas fracionais de remoção (TFR), em min^{-1} , dos lípides marcados, calculados pela média ponderada das respectivas taxas fracionais de transferências (k).

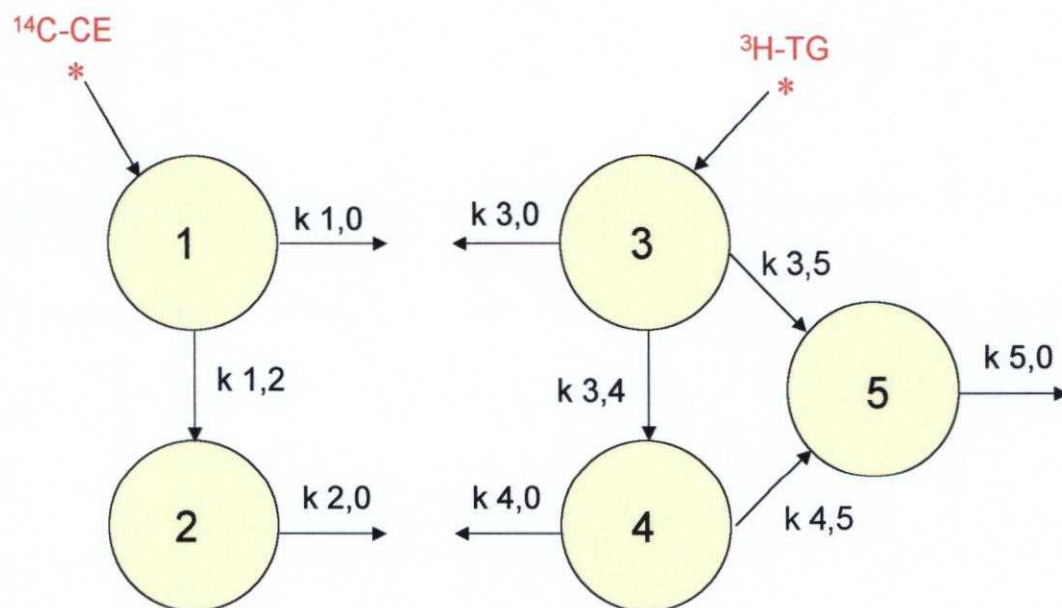


Figura 4 - Modelo compartimental utilizado para demonstrar a cinética plasmática dos quilomícrons artificiais (MESQUITA,1994).

3.3.3.4 Análise estatística

Foi aplicado o coeficiente de correlação de Spearman (não paramétrico) e não houve relação entre o Índice de Massa Corpórea (IMC) e as variáveis do perfil lipídico com as taxas fracionais de remoção (TFR) dos triglicérides e colesterol esterificado da emulsão entre os dois grupos de estudo (Controle e DAC).

Foi realizado o teste de Mann-Whitney (teste não paramétrico) para analisar as TFR, e os parâmetros analisados foram considerados significativamente diferentes ($p < 0.05$).

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 Perfil Lipídico

A **Tabela 6** mostra as concentrações plasmáticas de lípidos e apolipoproteínas dos pacientes portadores de DAC e dos indivíduos do grupo controle. Não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de lípidos e apolipoproteínas.

Nas **Figuras 5 e 6** temos a representação gráfica do perfil lipídico dos dois grupos estudados.

Tabela 6 – Perfil lipídico dos pacientes do grupo Controle e pacientes com DAC

CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA	GRUPOS	
	Controle (N =58)	Doença Arterial Coronariana (N=51)
Colesterol total (mg/dl)	201 ± 39	225 ± 48
Triglicérides (mg/dl)	134 ± 67	160 ± 76
LDL- Colesterol (mg/dl)	125 ± 36	149 ± 37
HDL- Colesterol (mg/dl)	49 ± 15	43 ± 10
VLDL- Colesterol (mg/dl)	26 ± 13	32 ± 15
Apolipoproteína A ₁ (g/l)	1.72 ± 0.50	1.78 ± 0.33
Apolipoproteína B (g/l)	1.13 ± 0.32	1.64 ± 0.60

Dados expressos em Média ± DP (desvio padrão)

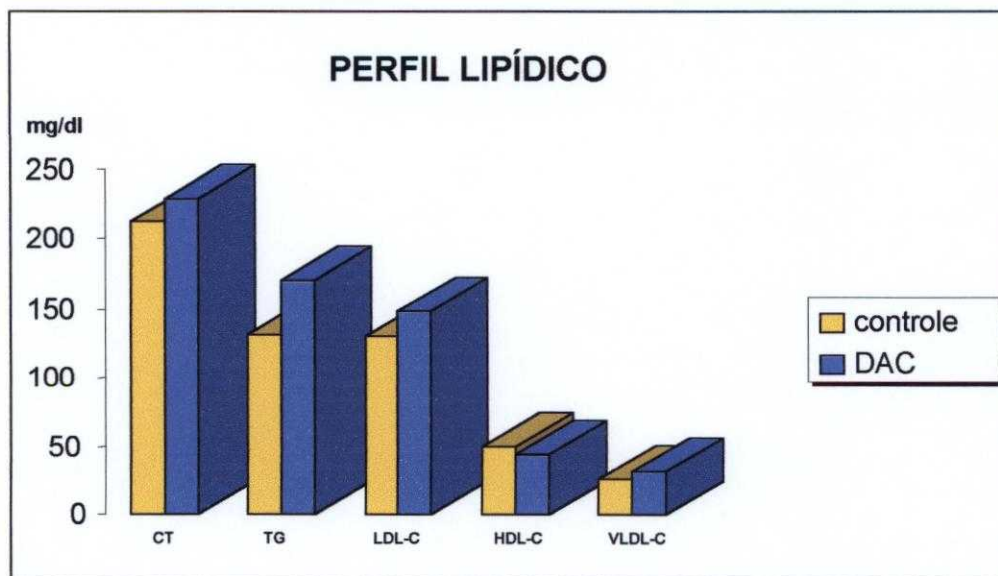


Figura 5 – Perfil lipídico contendo resultados de CT, TG, LDL-C, HDL-C e VLDL-C dos grupos Controle e DAC.

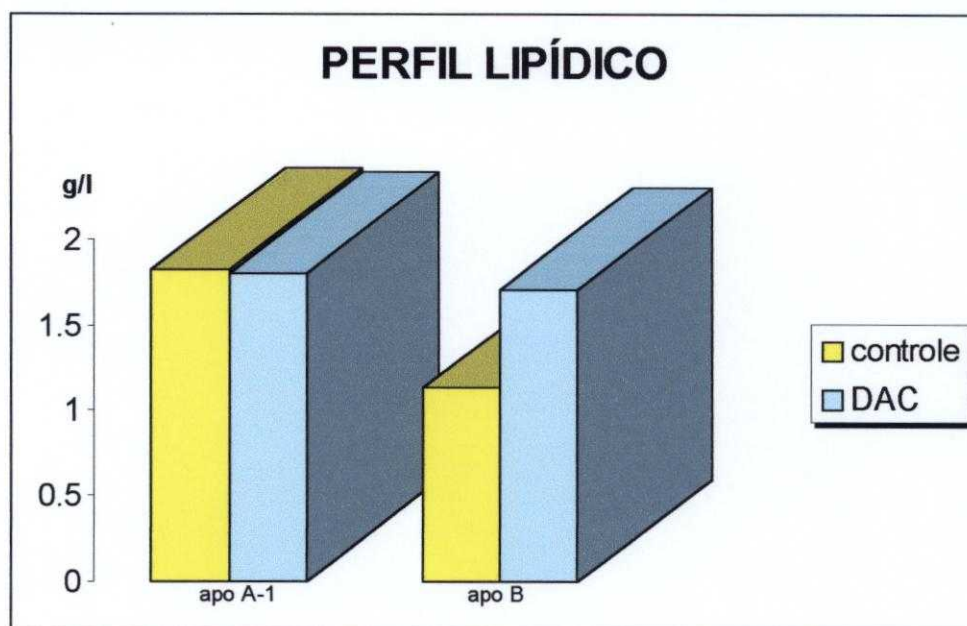


Figura 6 – Resultados do perfil de Apo AI e Apo B dos grupos Controle e DAC

4.2 Cinética Plasmática da Emulsão Artificial de Quilomícrom

A **Tabela 7** mostra que as Taxas Fracionais de Remoção (TFR) tanto dos triglicérides marcados com trício como do colesterol esterificado marcados com carbono-14 da emulsão, foram significativamente menores no grupo DAC quando comparadas com as do grupo controle. Esses resultados indicam uma deficiência na hidrólise dos triglicérides e na remoção dos remanescentes de quilomícrons da circulação pelo fígado.

Nas **figuras 7, 8, 9, 10 e 11** temos as curvas do decaimento radioativo (remoção plasmática) da emulsão artificial utilizada no estudo.

Tabela 7 – Taxa fracional de remoção plasmática do $^3\text{H-TG}$ e $^{14}\text{C-CE}$ para os dois grupos estudados: Controle e pacientes com Doença Arterial Coronária (DAC).

Grupos	TFR- $^3\text{H-TG}$	TFR – $^{14}\text{C-CE}$
Controle (n=51)	0.0422 ± 0.0254	0.0155 ± 0.0115
DAC (n=58)	0.0267 ± 0.0227*	0.0094 ± 0.0115*

Dados expressos em Média ± DP (desvio padrão)

*p ≤ 0.05 vs controle teste de Mann-Whitney (não paramétrico)

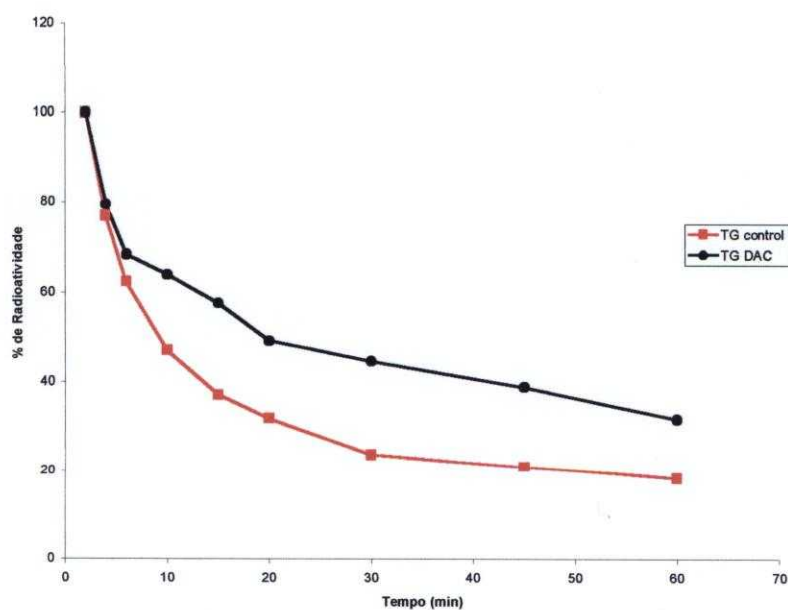


Figura 7 - Curva da remoção plasmática dos triglicérides marcados com ^3H nos grupos com DAC e Controle.

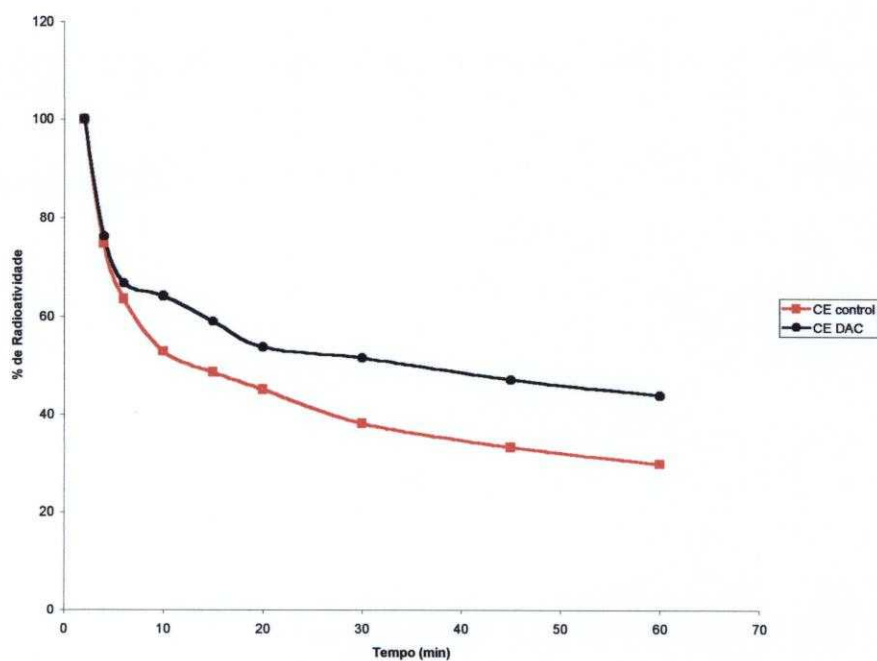


Figura 8- Curva da remoção plasmática colesterol esterificado marcados com ^{14}C nos grupos com DAC e Controle.

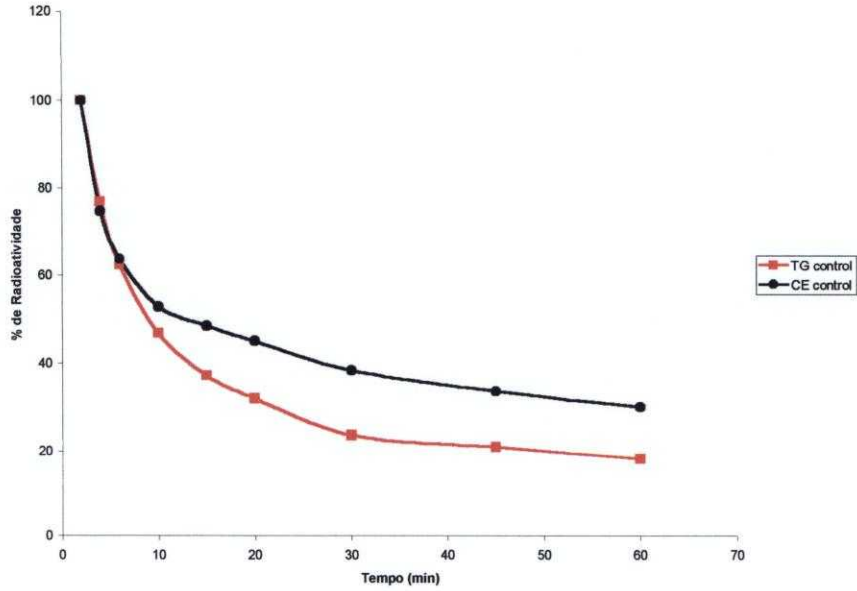


Figura 9- Curva da remoção plasmática dos triglicérides marcados com ^3H e do colesterol esterificado marcados com ^{14}C nos grupo Controle.

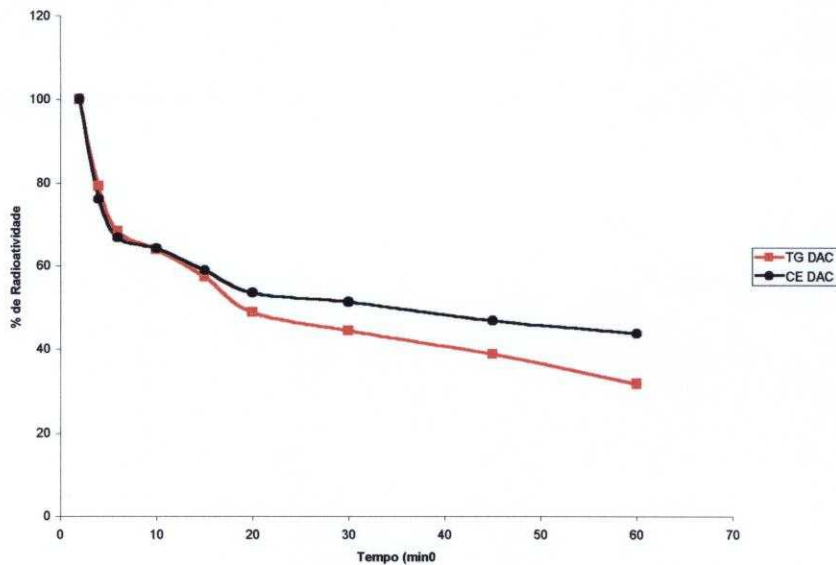


Figura 10 - Curva da remoção plasmática dos triglicérides marcados com ^3H e colesterol esterificado marcado com ^{14}C no grupo com DAC.

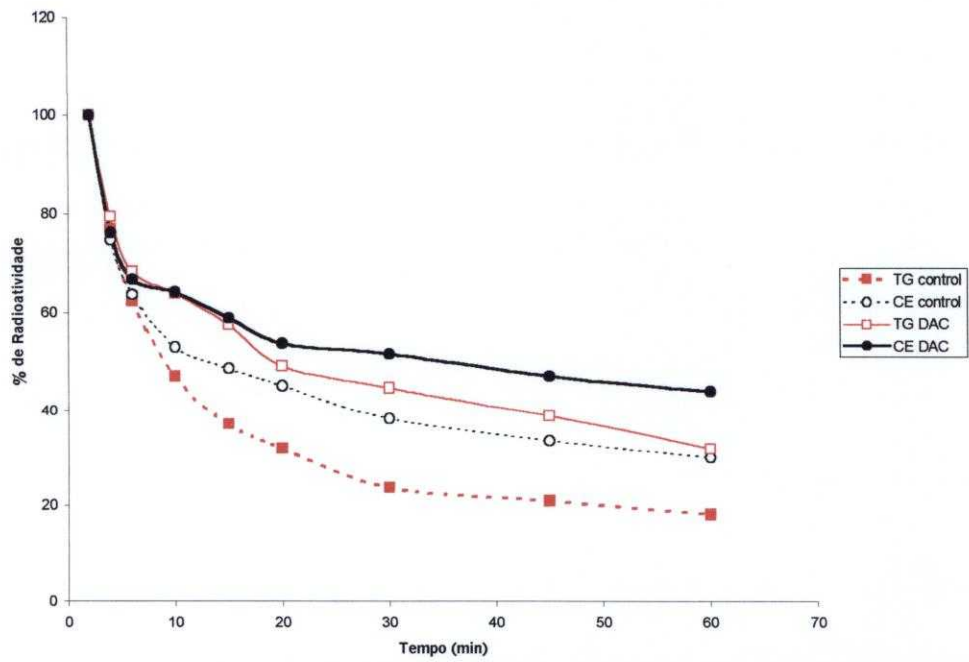


Figura 11 - Curvas de remoção plasmática dos triglicérides ($^3\text{H-TG}$) e do colesterol esterificado ($^{14}\text{C-CE}$) dos grupos Controle e DAC.

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

A noção de que a LDL é aterogênica e de que o risco de aterosclerose pode ser quantificado pela medida do colesterol de LDL e HDL está bastante difundida no meio científico (KANDEL e col., 1984). Diversas variáveis laboratoriais estão associadas com o risco de doença arterial coronária, são elas: colesterol total, colesterol de LDL e de HDL, a relação colesterol de LDL/colesterol de HDL, IDL, apo B, apo A-I, subclasses de LDL e Lp(a). (CASTELLI e col., 1986), (SLYPER, 1992), (DAHLÉN, 1988). Um menor consenso existe sobre o potencial aterogênico das lipoproteínas ricas em triglicérides. No entanto, o consistente achado por análise multivariada (ANOVA) de que o nível plasmático elevado de triglicérides é medida de valor preditivo para a doença arterial coronária sugere que pelo menos parte das lipoproteínas ricas em triglicérides possa ser aterogênica (AUSTIN e col., 1991). Uma outra linha de envolvimento das lipoproteínas com a aterosclerose constitui-se nas lipoproteínas geradas no estado pós-prandial, ou seja, os quilomícrons.

A lipemia pós-prandial, que representa a magnitude de triglicérides que aparece na circulação sistêmica, após a ingestão de uma refeição-teste, tem sido associada nas últimas décadas com a gênese da doença arterial coronária (DAC) (ZILVERSMIT, 1979; GROOT e col., 1991). Estudos demonstram que a interação de lipoproteínas ricas em triglicérides, isto é, VLDL e quilomícrons, com a LDL e com constituintes da parede arterial, pode resultar em aterogenicidade; e de que os remanescentes de quilomícrons e VLDL são capazes de depositar ésteres de colesterol em células musculares lisas e em macrófagos (ZILVERSMIT, 1979; GROOT e col., 1991).

Uma proposta lançada por Zilversmit (ZILVERSMIT, 1973) - que desde então tem sido mencionada em várias publicações - relaciona aterosclerose com a lipoproteína presente no estado pós-prandial, ou seja, com o quilomícron. De acordo com

esse autor é possível que, em indivíduos com perfil lipídico normal, o mecanismo de aterogênese seja o resultado da degradação do quilomícron e da VLDL na superfície arterial. Em indivíduos com deficiências na remoção destas lipoproteínas ou naqueles cujas dietas são ricas em gorduras e colesterol, a parede arterial pode estar exposta às lipoproteínas do estado pós-prandial por muito mais tempo do que às lipoproteínas do estado de jejum (ZILVERSMIT, 1979), (MAHLEY, 1988).

O fato da maioria das pessoas passarem a maior parte do tempo no estado pós-prandial, período em que ocorre a remodelagem das lipoproteínas, intensifica a idéia de que a lipemia pós-prandial contribua para a doença arterial coronária (BERGERON E HAVEL, 1997). Foi demonstrado em um estudo caso-controle, que a permanência mais prolongada de triglicérides no plasma após uma refeição-teste contendo gordura, era um fator preditivo independente de DAC (PATSCHE e col., 1992).

Muitos métodos são usados para quantificar o metabolismo dos quilomícrons. Os estudos enfocando o problema metabolismo de quilomícrons/lipidemia pós-prandial “versus” doença arterial coronária são em pequeno número e envolvendo pequenas amostragens, principalmente se comparados ao grande número de estudos epidemiológicos realizados em grandes amostras populacionais, que, ao longo das últimas décadas, estabeleceram o vínculo entre a doença e os níveis de LDL, HDL ou da trigliceridemia de jejum (VLDL). A lipemia pós prandial foi associada com a doença arterial coronária nos estudos que usaram o teste de sobrecarga de gordura.

Cinco estudos prévios em seres humanos relacionaram indiretamente a remoção dos quilomícrons com doença arterial coronária através da avaliação da lipemia pós-prandial.

Simons e col (SIMONS e col., 1987) demonstraram que, quatro horas após a ingestão de gorduras, a relação da apoB-48/apoB-100 estimada na fração plasmática Sf>60 é maior em pacientes com doença arterial coronária quando comparada com essa mesma relação em indivíduos sem a doença. Esta fração inclui quilomícrons, remanescentes de quilomícrons e VLDL. Uma vez que a apoB-48 é a forma de apo B presente no quilomícrons e remanescentes de quilomícrons, enquanto que a apo B-100 é a forma presente na VLDL, este índice representa a relação quilomícron + remanescente de quilomícron/VLDL. Isto indicaria remoção mais lenta do remanescente de quilomícron em pacientes com DAC. No entanto, esta conclusão é prejudicada pelo fato de que proporção desconhecida de apo B-100 é também sintetizada pelo intestino (SHAEFER e

col., 1978) . Além disso, a VLDL que contém apoB-100, também é uma lipoproteína potencialmente aterogênica (STEINBERG, 1987).

Simpson e col (SIMPSON e col., 1990) demonstraram que há prolongada e exagerada trigliceridemia pós-prandial em paciente com DAC comparada àquela verificada nos controles, entre quatro e oito horas após a ingestão de refeição gordurosa. O teste de absorção do palmitato de retinol também foi realizado, e sua concentração plasmática teve aumentado no grupo DAC apenas 10 horas após a refeição. Este aumento perdurou por pelo menos 24 horas e somente então foi significativo entre os dois grupos, indicando que remanescentes de quilomícrons estavam presentes em excesso, muito tempo após a ingestão da refeição contendo gordura.

Groot e col (GROOT e col., 1991) demonstraram que, após a ingestão de uma refeição-teste contendo palmitato de retinol, a concentração plasmática do éster de retinol tendeu a tornar-se maior em pacientes com DAC quando comparada com aquela do grupo controle.

Patsch e col (PATSCHE e col., 1992) também verificaram que tanto o pico de triglicérides quanto a magnitude de lipemia pós-prandial estão aumentados em pacientes com DAC quando os mesmos foram comparados com indivíduos normais. Estas alterações também tornam-se detectáveis apenas entre quatro a oito horas após a ingestão de uma refeição-teste padronizada. Neste período, apenas os níveis plasmáticos dos triglicérides tiveram eficaz valor preditivo (68% de exatidão) da presença ou ausência da DAC de modo independente da concentração de colesterol de LDL.

Karpe e col (KARPE e col., 1993) avaliaram a resposta pós-prandial do remanescente de quilomícrom em indivíduos normais e pacientes com DAC, através da determinação da apo B-48. Os remanescentes de quilomícrons estudados foram divididos de acordo com o seu tamanho em duas subfrações lipoprotéicas : pequenos (Sf de 20 a 60) e grandes (Sf de 60 a 400). Os níveis plasmáticos pós-prandiais de ambas as classes estiveram aumentados nos pacientes com DAC quando comparados com os do grupo normal em três a seis horas após a ingestão da refeição gordurosa. No entanto, nem todas as lipoproteínas contendo a apoB-48 da fração Sf de 60 a 400 são necessariamente remanescentes de quilomícrons, uma vez que a presença de quilomícrons nesta fração não pode ser inteiramente descartada.

A fase pós prandial é caracterizada por um risco de aumento de aterosclerose pelo acúmulo temporário de quilomícrons remanescentes que infiltra na

parede do vaso (CHUNG, 1994) e por um risco de aumento de trombose pela ativação do processo de coagulação (SILVEIRA e col., 1994)

Durante a fase pós prandial há também uma ativação do transporte reverso do colesterol .

A obtenção de métodos mais práticos para avaliar o metabolismo dos quilomícrons faz-se necessária para a extensão desses estudos a grandes populações . Isso incluiria estudos prospectivos e intervencionistas. Em 1985 Redgrave e Maranhão, descreveram , no rato, um novo método de avaliar o metabolismo de quilomícrons (REDGRAVE e MARANHÃO, 1985) . Nessa abordagem , emulsões ricas em triglicérides que simulam a estrutura e comportamento metabólico intravascular dos quilomícrons, sendo duplamente marcadas com triglicérides e éster de colesterol radioativo, são injetadas em bolo na circulação e a cinética plasmática dos radioisótopos é determinada nas amostras de sangue colhidas durante 30 minutos a uma hora. Dessa forma, o componente absorptivo intestinal é evitado e, por meio da análise da curva de decaimento dos triglicérides e do colesterol éster dos “quilomícrons artificiais”, é possível avaliar de maneira direta a lipólise e a remoção dos “remanescentes” do plasma. Para evitar as interferências da natureza competitiva mencionadas anteriormente, o teste é realizado após jejum de 12 horas. Esse método é assim mais específico e interpretação matemática está simplificada porque envolve apenas a saída das partículas do compartimento plasmático, o componente realmente importante do ponto de vista fisiopatológico.

No presente estudo comparamos a remoção plasmática dos quilomícrons artificiais medida em pacientes com doença arterial coronária e em indivíduos sem a doença, em ambos os grupos tínhamos pacientes dislipidêmicos, porém nenhuma correlação com as taxas fracionais de remoção foi observada. Os pacientes com doença arterial coronária apresentaram taxas de remoção tanto de triglicérides como de éster de colesterol pronunciadamente menores que seus controles. A remoção do éster de colesterol foi de 1,6 vezes menor na presença de DAC, isto significa que os mecanismos envolvidos com a remoção das partículas de quilomícrons remanescentes sofrem alterações nos pacientes portadores de DAC em relação ao grupo controle. A remoção dos triglicérides foi de duas vezes mais lenta nos pacientes com DAC em relação ao grupo controle; estes resultados indicam haver um processo mais lento de lipólise no grupo DAC se compararmos ao grupo controle. Destas observações pode-se inferir que, nos pacientes com doença arterial coronária, os quilomícrons produzidos após a ingestão de uma refeição

gordurosa sofrem processo de lipólise muito menos intenso e os remanescentes de quilomícrom não são rapidamente removidos da circulação quanto nos indivíduos sem a doença.

Os resultados que obtivemos do estudo, mostram que variações no catabolismo dos quilomícrons – que, no estado de jejum, não chegam sequer a provocar hipertrigliceridemia leve – podem estar, de fato, associados à aterogênese. Portanto, a avaliação do circuito pós-prandial de transporte de lípides é realmente importante para se obter quadro mais completo dos fatores de predisposição à doença

É possível que, quando as partículas remanescentes permanecem mais tempo na corrente sangüínea, sua deposição em células do leito vascular seja facilitada. De fato, sugere-se que, durante a lipólise intravascular, os remanescentes de quilomícrons possam ser captados por células arteriais de músculo liso ou por macrófagos em locais de lesão da túnica íntima arterial (CHUNG e col., 1989; FLOREN e col., 1981).

Utilizando o método dos “quilomícrons artificiais”, foi estudado um grupo de pacientes portadores de Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), doença acompanhada de grande aumento da incidência de doença arterial coronária (BORBA, 1999). Também em pacientes que forma submetidos a transplante cardíaco ocorrem os mesmos defeitos de diminuição de lipólise e remoção dos remanescentes (VINAGRE, 2000), registrados no LES. É importante lembrar que, após o transplante cardíaco desenvolve-se com frequência a doença coronária do transplante, uma forma de aterosclerose acelerada que é a principal causa de morbidade e mortalidade após o primeiro ano de transplante. Portanto, em duas situações onde há aterogênese aumentada, há o registro de alterações marcantes no metabolismo de quilomícrons fazendo supor que esse circuito tenha papel importante no desenvolvimento do processo. Em ambos os estudos nos parece válida a hipótese de que os distúrbios imunológicos e inflamatórios que acompanham tanto o lúpus eritematoso sistêmico como o transplante cardíaco provoquem as alterações de metabolismo dos quilomícrons. Por sua vez, essas alterações de metabólicas podem vir a facilitar o processo de obstrução arterial aterosclerótica.

Uma das vantagens do método da emulsão de quilomícrons artificiais em relação a outros procedimentos consiste no fato de que todos os passos do metabolismo do quilomícron são acompanhados por meio de dois dispositivos simultâneos de marcação radioisotópica : o éster de colesterol marcado com ^{14}C tende a representar a remoção das próprias partículas da emulsão pelos órgãos, e o triglicéride marcado com ^3H reflete a

soma dos dois processos, o de hidrólise dos triglicérides das partículas da emulsão pela LPL e o de remoção plasmática das partículas remanescentes contendo o triglicéride residual.

O teste da emulsão artificial injetada endovenosamente apresenta grandes vantagens para o estudo do metabolismo de quilomícrons. O preparo da emulsão é simples e seus constituintes podem ser facilmente marcados com isótopos. Além do mais, as espécies moleculares presentes na emulsão são perfeitamente conhecidas e a composição química pode ser padronizada e alterada de acordo com os objetivos e necessidades do estudo.

A emulsão pode ser facilmente preparada e manipulada com uma dose radioativa muito baixa, que não oferece qualquer risco ao paciente. Após esterilização, pode ser armazenada por várias semanas para múltiplos experimentos. A execução do teste é rápida, e a interpretação dos dados é simples, uma vez que o método avalia especificamente os mecanismos de captação plasmática do quilomícron, que são aqueles presumivelmente envolvidos na aterogênese. O uso do método abre, portanto, a perspectiva de se estudar rotineiramente o metabolismo dos quilomícrons na tentativa de completar o quadro dos fatores de risco da aterosclerose.

6. CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Utilizando o método de emulsões lipídicas marcadas radioisotopicamente demonstramos que o metabolismo de quilomícrons está alterado em pacientes portadores de DAC, isto já confirmado em outros estudos que utilizaram o método da vitamina A .

O uso de emulsões artificiais é prático para realização e testa especificamente a remoção dos quilomícrons do compartimento plasmático, evitando processos complexos como a digestão e absorção de lípides.

No presente estudo, encontramos uma diminuição das taxas fracionais de remoção dos triglicérides (marcados com ^3H) e do colesterol esterificado da emulsão (marcado com ^{14}C). Isto demonstra que tanto o processo de lipólise dos triglicérides dos quilomícrons quanto a captação dos remanescentes pelos receptores do fígado está lento em pacientes portadores de doença arterial coronária.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBROSE, J.A.; TANNENBAUM, M.A.; ALEXOPOULOS, D. et al. Angiographic progression of coronary artery disease and the desenvelopment of myocardial infarction. *J. Am. Cardiol.*, v.12, p. 56-62, 1988.

ANGERVALL, G. On the oral fat tolerance test. *Acta Med. Scand.*, v. 176 (Suppl) , p. 1-84, 1964.

ARBEENY, C.M.; RIFICI, V.A. The uptake of chylomicron remnants and very low density lipoprotein-remnants by the perfused rat liver. *J. Biol. Chem.*, v.259, p.9662-6, 1984.

AUSTIN, M.A.; GOTTO, Y.; LENFANT, C; TYROLER, H.A. The hyperglyceridemias: risk and management. *Am. J. Cardiol.*, v. 68, p. 22^A25-A, 1991.

BARTER, P.J.; HOPKINS, G.J.; HA, Y.C. The role of lipid transfer proteins in plasma lipoprotein metabolism. *Am. Heart J.*, St. Louis, v.113, p.538, 1987.

BEER, F.; ECKEL, R.; KERN Jr, F. Plasma decay of chylomicron remnants is not affect by heparin-stimulated plasma lipolytic activity in normal fasting man. *J. Lipid. Res.*, v. 26, p. 852-9, 1985.

BEER, F. Characterization of chylomicron remnant clearance by retinal palmetto label in normal humans. *J. Lipid. Res.*, v.33, p. 915-30, 1992.

BEER, F.; KERN, F. Plasma clearance of chylomicrons labeled with retynil palmitate in health human subjects. *J. Lipid. Res.*, v.38, p.301-14, 1984.

BERG, K. "A new serum type system in man- The Lp system" *Acta Pathol. Microbiol.*, v. 59, p 369-82, 1963.

BERGERON, N.; HAVEL, R.J. Assessment of postprandial lipemia: nutritional influences. *Curr. Opin. Lipidol.*, v. 8(1), p. 43-52, 1997.

BERLINER, J.; YLÄ-HERTTUALA, S. The atherosclerotic lesion: a dynamic landscape. *Curr. Opin. Lipidol.*, v. 9, p. 385-6, 1998.

BERLINER, J.A.; NAVAB, M.; FOGELMAN, A.M. et al. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation*, v.91, p.2488-96, 1995.

BEVILACQUA, M.P.. Endothelial leukocyte adhesion molecules. *Ann. Rev. Immunol.*, v.11, p.767-804, 1993.

BIERMAN, E.L.; ORAM, J.F. The interaction of high-density lipoproteins with extrahepatic cells. *Am. Heart J.*, v.113, p. 549-50, 1987.

BIHAIN, B.E.; YEN, F.T. The lipolysis stimulated receptor: a gene at last. *Curr. Opin. Lipidol.*, v.9, p.221-4, 1998

BORBA, E.F.; BONFÁ, E.; VINAGRE, C.G.; RAMIRES, J.A.F; MARANHÃO, R.C. Chylomicron metabolism is markedly altered in systemic lupus erythematosus. *Athr. Rheum.*, v.43, p.1033-40, 1999.

BROWN, M.S.; GOLDSTEIN, J.L. – A receptor-mediated pathway for cholesterol for homeostasis. *Science*, v. 232, p. 34-47, 1986.

BROWN, M.S.; GOLDSTEIN, J.L. Lipoproteins receptors in the liver: control signals for plasma cholesterol traffic. *J. Clin. Invest.*, v.72, p.743-7, 1983

BROWN, M.S.; KOVANEN, P.T.;GOLDSTEIN, J.L. - Regulation of plasma cholesterol by lipoprotein receptors. *Science.*, v.212, p.628-35,1981.

BROWN, M.V.; BAGINSKY, M.L. Inhibition of lipoprotein lipase by an apoprotein of human very low density lipoprotein. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, v.46, p.375-82, 1972.

CARA,L.; DUBOIS, C.; BOREL, P. e at. Effects of oat bran, rice bran, wheat fiber and wheat germ on postprandial lipemia in healthy adults. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 55, p.81-8, 1992.

CARRUTHERS, S.G. Cardiovascular Risk Factors in Perspective. *Canadian Family Physican.*, v. 39, p.309-14, 1993.

CASTELLI, W.P.; GARRISON, R.J.; WILSON, P.W.F.; ABBOTT, R.D.; KALOUSDIAN.S.; KANNEL,W.B. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels: The Framingham Study. *J.A.M.A.*, Chicago, v.256, p.2835-8, 1986.

CHAPMAN, M.J.; GOLDSTEIN, S.; LAGRANGE, D.; LAPLAUD, P.M. A density gradient ultracentrifugal procedur for the isoltion of the mahor lipoprotein classes from human serum. *J. Lipid. Res.*, v.2, p. 260-6, 1981

CHOI , S Y .; KOMAROMY , M.C.; CHEN, J.; FONG, L.G.; COOPER, A.D. Acceleration of uptake of LDL but not chylomicrons or chylomicron remnants by cells that secrete apo E and hepatic lipase. *J. Lipid. Res.*, v.39, p. 848-59, 1994.

CHUNG, B.H.; TALLIS, G.; YALAMOORI, V.; ANANTHARAMAIAH, G.M.; SEGREST, J.P. Liposome-like particles isolated from human atherosclerotic plaques are structurally and compositionally similar to surface remnants of triglyceride-rich lipoproteins. *Artheroscler. Thomb.*, v.14 (4) , p. 622-35, 1994.

CHUNG, B.H.; SEGREST, J.P., SMITH, K.et al. Lipolytic surface remnants of triglyceride – rich lipoproteins are cytotoxic to macrophages but not in the presence of high density lipoproteins. *J. Clin. Invest.*, v. 83, p.1363-74, 1989.

COHEN, J.C.; NOKES, T D.; BENADE, A.J.S. Serum triglyceride responses to fatty meals: effects of meal fat content. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 47, p. 825-7, 1988.

COHEN, J.C. Chylomicron triglyceride clearance: comparison of three assessment methods. *Am. J. Clin Nutr.*, v. 49, p. 306-13, 1989.

COHN, J.S.; JOHNSON, E.J.; MILLAR, J.S.; CHN, S.D.; MILNE, R.W.; MARCEL, Y.L.; RUSSEL, R.M.; SCHAEFER, E.J. Contribution of apo B 48 and apo B 100 triglycerides rich lipoproteins (TRL) to postprandial increases in the plasma concentration of TRL triglycerides and retinyl esteres. *J. Lipid. Res.*, v.34, p.2033-40,1993.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR (CNEN). *Diretrizes Básicas de Radioproteção*. São Paulo, 1988.[Norma 3.01].

COOPER, A.D. Hepatic uptake of chylomicron remnants. *J. Lipid Res.*, v.38, p.173-92, 1997.

COREY, J.E.; ZILVERSMIT, D.B. Effect of cholesterol feeding on arterial lipolytic activity in the rabbit. *Atherosclerosis*, v.27, p.201-212, 1977.

DAHLÉN, G.H. Lipoprotein (a) in relation to atherosclerotic disease. *Prog. Clin. Biol. Res.*, v. 255, p. 27-33, 1988.

DAVIES, M.J. Stability and instability : two faces of coronary atherosclerosis. The Paul Dudley White Lecture. *Circulation.*, v.94, p. 2013-20, 1996.

DAVIES, M.J.; RICHARDSON, P.D.; WOOLF, N. et al. Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: Role of extra-celular lipid, macrophage, and smooth muscle cell content. *Br. Heart. J.*, v.69, p. 377-81, 1993.

EBENBICHLER, C.; KIRCHMAIR, R.; EGGER, C.; PATSCH, R. Postprandial state and atherosclerosis. *Curr.Opin.Lipidol.*, v.6, p.286-290, 1995.

- EISENBERG, S.- High density lipoprotein metabolism *J. Lipid. Res.*, v. 25 , p. 1017-58, 1984..
- EISENBERG, S.; LEVY, R.I. Lipoprotein metabolism. *Adv. Lipid. Res.* ,v.13, p. 1- 89, 1975.
- FELTS, J.M. The quantitative separation of chylomicrons and chylomicrons remnants by column chromatography. *Biochim Biophys Acta.*, v. 918, p. 93-6, 1987.
- FIELDING, C. J. Human lipoprotein lipase inhibition of activity by cholesterol. *Biochim. Biophys. Acta.*, v. 218, p. 221-6 , 1970.
- FIELDING, C.J. Lipoprotein lipase: evidence for high –and-low affinity enzyme sites. *Biochemistry* , v.15 , p. 879-84 , 1976.
- FLÓREN, C.H.; ALBERS, J.J.; BIERMAN, E.L. Uptake of chylomicron remnants causes cholesterol accumulation in cultured human arterial smooth muscle cells. *Biochim. Biophys. Acta.* , v. 663, p. 336-49, 1981.
- GIMBRONE, M.A Jr. Monocyte rolling, arrest and spreading on IL-4 activated vascular endothelium under flow is mediated via sequential action of L-selectin, beta 1-integrins,, and beta2-integrins. *J. Cell Biol.*, v.125, p.1417-27, 1994.
- GLAGOV, S.; WEISENBERG, E.; ZARINS, C.et al. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N. Engl. J. Med*, v.316, p.371-5, 1987.
- GOLDBERG, I.J . Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J.Lipid. Res.*, v. 37, p. 693-707, 1996.
- GOLDSTEIN, J. L.; KITA, T.; BROWN, M.S. Defective lipoprotein receptors and atherosclerosis. Lessons from na animal couterparr of familial hypercholesterolemia,. *N. Engl. J. Med* , v . 309, p. 288-96, 1983.

GOLDSTEIN, J.L.; ANDERSON, R.G.W.; BROWN, M.S. Coated pits, coated vesicles, and receptor-mediated endocytosis. *Nature*, v.279, p.679-85, 1979.

GOTTO, A.M. High density lipoproteins: biochemical and metabolic factors. *Am. J. Cardiol.*, v.52, p.2-4, 1983.

GOTTO, A.M. Lipoproteins metabolism and the etiology of hyperlipidemis. *Hosp. Pract.*, v.23, p. 4-13, 1988.

GOTTO, A.M.; LaROSA, J.C.; HUNNINGHAKE, D. et al. The cholesterol facts; A summary of the evidence relating dietary fats, serum cholesterol and coronary heart disease. *Circulation.*, v81, p. 1721-33, 1990.

GREGG, R.E.; BREWER, Jr H.B. The role of apolipoprotein E and lipoprotein receptors in modulating the in vivo metabolism of apolipoprotein B-containing lipoproteins in humans. *Clin. Chem.*, v.34, p.B28-B32, 1988.

GROOT, P.H.; Van STIPHOUT, W.A; KRAUSS, X.H; JANSEN, H; Van TOL, A.; Van RAMSHORST, E.; CHIN-ON, S.; HOFMAN, A.; CRESSWELL, S.R.; HAVEKES, L. Postprandial lipoprotein metabolism in normolipidemic men with and without coronary artery disease. *Arterioscler. Thromb.*, v.11(3), p. 653-62, 1991.

GRUNDY, S.M.; MOK, H.Y.I. Chylomicron clearance in normal and hyperlipidemic man. *Metabolism.*, v. 25, p. 1225-39, 1976.

HALLBERG, D. . Studies on the elimination of exogenous lipids from the blood stream. The kinetics of the elimination of a fat emulsion studied by single injection technique in man. *Acta Physiol. Scand*, v. 64 ,p. 306-13, 1965.

HAZZARD, W R.; BIERMAN, E.L. Delayed clearance of chylomicrons remnants following vitamin A-containing oral fat loads in broad- β disease (type III hyperlipoproteinemia). *Metabolism.*, v.25, p. 777-801, 1976.

HERZ, J.; QIU, S-Q.; OESTERLE, A.; DESILVA, H.V.; SHAFI,S.; HAVEL, R.J. Initial hepatic removal os chylomicron remnants is unaffected but endocytosis is delayed in mice lacking the low density lipoprotein receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v.92, p.4615, 1995.

HIGUCHI. .M.L.; PALOMINO, S.A.; SAMBIASE, N.V.; FUKASAWA, S.; AIELLO, V. D.; BEZERRA, H.G. et al. Association between the amount of Chlamydia pneumoniae, adventitial inflamation and unstable atheromatous plaques: aan electron microscopy, in situ hybridization and immunohistochemistry study. *Eur. Opin. Heart J.*, v.21, p.127-132, 2000.

HIRATA, M.H.; OLIVEIRA, H.C.F.; QUINTÃO, E.C.R.; REDGRAVE, T.G.; MARANHÃO, R.C. The effects of Triton WR-1339, protamine sulfate and heparin on the plasma removal of emulsion models of chylomicrons and remnants in rats. *Biochem. Biophys. Acta.*, v.917, p.344-6, 1987.

HUSSAIN, M.M.; KANCHA, R.K.; ZHOU, Z.; LUCHOOMUN, J.; ZU,H.; BAKILLAH, A. Chylomicron assembly and catabolism: role of apolipoproteins and receptors. *Biochem. Biophys. Acta.*, v.1330 , p. 151-70, 1996.

JACKSON, L .A .; CAMPBELL, L. A.; SCHMIDT, R. A , et al. Specificity of detection of Chlamydia pneumoniae in cardiovascular atheroma: evaluation of the innocent bystander hypothesis . *Am. J. Pathol.*, v. 150 , p. 1785-90, 1997.

JANG, J.; LINCOFF, A.M.; PLOW, E.F. et al. Cell adhesion molecules in coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.*, v.24, p. 1591-61, 1994.

KANE, JP.; HARMAN, D.A; PAULUS, H.E. Heterogeneity of apoprotein B: isolation of a new species from human chylomicrons. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* V.77, p. 2465-9, 1980.

KANNEL , W.B .,;DAWBER , T.R .; KOGAN , A. et al. Factor of risk in the development of coronary heart disease: six years follow-up experience. The Framingham Study. *Ann. Int. Med.*, v.55 , p 33-50 , 1961.

KANNEL, W.B.; DOYLE, J.T.; OSTFELD, A.M. et al. Optimal resources for primary prevention of atherosclerosis diseases. *Circulation*, v. 70, p. 153^A-205^A, 1984.

KARPE, F.; STEINER,G.; OLIVERCRONA, T. et al. Metabolism of tryglyceride-rich lipoproteins during alimentary lipemia. *J. Clin. Invest.*, v.91, p.748-58, 1993.

KRAGEL, A.H.; REDDY, S.G.; WITTES, J.T.; ROBERTS, W.C. Morphometric analysis of the composition of the atherosclerotic plaques in the four major epicardial coronary arteries in in acute myocardial infarction and in sudden coronary death . *Circulation*, v.80, p.1747-56, 1989.

KRAGEL, A.H.; REDDY, S.G.; WITTES, J.T.; ROBERTS, W.C. Morphometric analysis of the composition of coronary arterial plaques in isolated unstable angina pectoris with pain at rest. *Am. J. Cardiol.* V.66, p. 562-7, 1990.

KRASINSKI,S.D.; COHN, J.S.; SCHAEFER, E.J.; RUSSEL, R.M. Postprandial plasma retinyl ester response is greater in older compared with younger subjects. *J. Clin. Invest.*, v. 85, p. 883-92, 1990.

KRAUSS, R.M.; HERBERT, P.N.; FREDRICKSON, D.S. Further observations on the activation and inhibition of lipoprotein lipase by apolipoproteins. *Cir. Res*, v.33, p.403-11, 1973.

LEE, D.M.; ALAUPOVIC, P. Studies of the composition and structure of plasma lipoproteins. Isolation, composition, and immunochemical characterization of low density lipoprotein subfractions of human plasma. *Biochemistry*, v.9, p. 2244-52, 1970.

LEVY, E. Selected aspects of intraluminal and intracellular phases of intestinal fat absorption. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, v.70, p. 413-9, 1992.

LIBBY, P .; EGAN, D.; SKARLATOS, S. Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research . *Circulation*, v.96 , p. 4095-103., 1997.

LINDER, C; CHERNICK, S.S.; FLECK, T.R.; SCOW, R.O. Lipoprotein lipase and uptake of chylomicron triglyceride by skeletal muscle of rats. *Am. J. Physiol.*, v.231, p.860-4, 1976.

LUSCINSKAS, F.W.; KANSAS, G.S.; DING, H.D. and LEWIS, A. Conner memorial lecture. Oxidative modifications of LDL and atherogenesis. *Circulation*, v.95, p.1062-71, 1997.

LUSIS, A.J. Atherosclerosis, review, *Nature*, v.407, p.233-41, 2000.

MacMAHON, S.; PETO, R.; CUTLER, J. et al. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 1, prolonged differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. *Lancet*, v.335, p. 765-74, 1990.

MAHLEY, R.W. ; Ji, G.Z. Remnant lipoprotein metabolism: key pathways involving cell-surface heparan sulfate proteoglycans and apolipoprotein E. *J. Lipid. Res.*, v. 40, p. 16, 1999.

MAHLEY, R.W. Type III hyperlipoproteinemia : a genetic disorder associated with premature atherosclerosis. *Lipid. Rev.*, v.2 ,p. 73-8, 1988.

MAMO, J.C.L.; WHEELER, J.R. Chylomicrons or their remnants penetrate rabbit thoracic aorta as efficiently as do smaller macromolecules, including low-density lipoprotein, high-density lipoproteins, and albumin. *Coron. Art. Dis.*, v.5, p.695-705, 1994.

MARANHÃO, R.C.; TERCYAK, A.M.; REDGRAVE, T.G. Effects of cholesterol content on the metabolism of protein-free emulsions models of lipoproteins. *Biochem. Biophys. Acta*, Amsterdam, v.875, p.247-255, 1986.

MARCEL, Y.L.; VEZINA, C.; TENG, B.; SNIDERMAN, A. Transfer of cholesterol esters between human high density lipoproteins and triglyceride-rich lipoproteins controlled by a plasma protein factor. *Atherosclerosis*, v.35, p. 127-33, 1980.

OLIVEIRA, H.C.F.; HIRATA, M.H.; REDGRAVE, T.G.; MARANHÃO, R.C. Competition between chylomicrons and their remnants for plasma removal: a study with artificial emulsion models of chylomicrons. *Biochem. Biophys. Acta.*, v.958, p.211-7, 1988.

PATSCH, J.R.; MIESENBOCK, G.; HOPFERWIESER, T.; MUHLBERGER, V.; KNAPP, E.; DUNN, J.K.; O G OTTO; A.M.; PATSCH, W. Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. *Arterioscler. Thromb.*, v.12, p.13236-45, 1992.

PATSCH, J.R.; PRASAD, S.; GOTTO, Jr A.M. ; OLIVERCRONA, G.B. Postprandial lipemia: a key for the conversion of high-density lipoprotein 2 into high density lipoprotein 3 by hepatic lipase . *J. Clin. Invest.* , v.74, p. 2017-23, 1984.

QUINN, D.;SHIRAI, K.; JACKSONS, R.L. Lipoprotein lipase: mechanism of action and role in lipoprotein metabolism. *Prog. Lipid. Res.*, v.22, p.35-78,1982.

REAVEN, E.P.; KOLTERMAN, OG.; REAVEN, G.M. Ultrastructural and physiological evidence for corticosteroid-induced alterations in hepatic production of very low density lipoprotein particles. *J. Lipid. Res.*, v.15, p.74-83, 1974.

REDGRAVE, T.G. Formation and metabolism of chylomicrons. *Int. Ver. Physiol.*, v. 28, p. 103-30, 1983.

REDGRAVE, T.G.; MARANHÃO, R.C. Metabolism of protein-free lipid emulsion models of chylomicron in rats. *Biochim Acta.*, v. 835, p. 104-12, 1985.

REDGRAVE, T.G.;ZECH, L.A. A kinetic model of chylomicron core lipid metabolism in rats: the effect of a single meal. *J. Lipid. Res.*, v.5, p.473- 482, 1987.

ROSENSCHEIN, U.; ELLUS, S.G.; YAKUBOV, S.J et al. Histopathologic correlates of coronary lesion angiographic morphology: lessons from a directional atherectomy experience. *Coron. Artery Dis.*, v.3, p.953-61, 1992.

- ROSS, R. Atherosclerosis - An Inflammatory Disease . *N. Engl. J. Med.*, v.340, p.115-25, 1999.
- ROSS, R. Growth regulatory mechanisms and formation of the lesions os atherosclerosis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v.748, p.1-6, 1995.
- ROSS, R. The pathogenesis of atherosclerosis. An update *N.Engl. J. Med.*, v. 314, p. 488-500 , 1986.
- ROSS, R. The pathogenesis of atherosclerosis: perspective for the 1990. *Nature*, v.362 , p.801-9, 1993.
- ROSSNER, S; KRISTEN, P. Relationship between lipoproteins including HDL subfractions and the intravenous fat tolerance test. *Atherosclerosis*, v.52 (3), p. 287-94, 1984.
- ROSSNER, S. Studies on an intravenous fat tolerance test. Methodological, experimental and clinical experiences with Intralipid® . *Acta Med. Scand.* , 564 (Supp), p. 2-21, 1974.
- SCHAEFER, E.J.; EISENBERG, S.; LEVY, R.I. Lipoprotein apoprotein metabolism. *J. Lipid. Res.*, v.19, p.667-87, 1978.
- SCHAEFER, E.J.; ZECH, L.A ; JENKIS, L.L et al. Human apolipoprotein A-I and A-II metabolism. *J. Lipid. Res.*, v.23, p. 850-62, 1982.
- SCHAWARTZ, C.J.; VALENTE, AJ.; SPRAGUE, E.A; KELLY, J.L.; NEREM, RM. The pathogenesis of atherosclerosis: an overview. *Clin. Cardiol.*, v.14, p. 11-16, 1991.
- SCOW, RO.; EGELRUD, T. Hydrolysis of chylomicron phosphatidylcholine in vitro by lipoprotein lipase, phospholipase A2 and phospholipase C. *Biochem. Biophys.Acta.*,v.431, p.538-49,1976.

SILVEIRA, A., GREEN, F.; KARPE, F.; BLOMBACK, M.; HUMPHRIES, S.; HAMSTEN, A. Elevated levels of factor VII activity in the postprandial state: effect of the factor VII Arg-Gln polymorphism. *Thromb. Haemost.*, v.72(5), p. 734-9, 1994.

SIMONS, L.A.; DWYER, T.; SIMONS J et al. Chylomicrons and chylomicron remnants in coronary artery disease: a case control study. *Atherosclerosis.*, v. 65, p. 181-9, 1987.

SIMPSON, H.S.; WILLIAMSON, C.M.; OLIVERCRONA, T et al. Postprandial lipemia, fenofibrate and coronary artery disease. *Atherosclerosis.*, v.85, p. 193-202, 1990.

SLYPER, H.A. A fresh look at the atherogenic remnant hypothesis. *Lancet.*, v.340, p. 289-91, 1992.

SMITH, R.M. Dose estimate techniques. In: Rollo FD (ed). Nuclear medicine physics, instrumentation and agents. Saint Louis, USA: C.V. *Mosby*, v.14, p.513, 1977.

SOCIEDADE BRASILEIRA de CARDIOLOGIA . Segundo Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias. *Arq Bras Cardiol.*, v.67: 1-16, 1996.

SOWBY, F. D. Statement from the 1984 Stocholm meeting of the Internacional Commission on Radiological Protection. *J. Can. Assoc. Radiol.*, v. 36 , p. 56-7 , 1985.

STARY, H. Natural history of atherosclerosis : the sequence of changes in lesions composition. In: Jacotot B, Mathé D, Fruchart J-C, eds. *Elsevier Science.*, p.393, 1998.

STEINBERG, D. Lipoproteins and the pathogenesis of atherosclerosis. *Circulation.*, v.76, p. 508-14, 1987.

THOMSON, A.B.R.; KEELAN, M.; GARG, M.L.; CLANDININ, M.T. Intestinal aspects of lipid absorption : in review. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, v.67, p.179-88, 1989.

TSO, P.; FUGIMOTO, K. The absorption and transport of lipids by small intestine. *Brain Res Bull.*, v.27,p.477-82, 1991.

UEMURA, K.; PISA, Z. Trends in cardiovascular disease mortality in industrialized countries since 1950. *Wld. Hlth. Statist. Quart.*, v.41, p.155-78, 1988.

VINAGRE, C.G.; STOLF, N.A.; BOCCHI, E.; MARANHÃO, R.C. Chylomicron metabolism in patients submitted to cardiac transplantation. *Transplantation.*, v.69(4), p.532-7, 2000.

WILLIAMS, K.J.; TABAS, I. The response-to-retention hypothesis of atherogenesis reinforced. *Curr. Opin.Lipidol*, v.9, p.471-4,1998.

ZILVERSMIT, D.B. A proposal linking atherogenesis to the interaction of endothelial lipoprotein lipase with triglyceride-rich lipoproteins. *Cir. Res.* , v. 33, p. 633-8, 1973.

ZILVERSMIT, D.B. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation.*, New York, v.60, p.473-85, 1979.



M22538



Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
Diretoria de Ensino & Informação Científica e Tecnológica
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 Cidade Universitária CEP: 05508-000
Fone/Fax(0XX11) 3816 - 9148
SÃO PAULO - São Paulo - Brasil
<http://www.ipen.br>

O Ipen é uma autarquia vinculada à Secretaria de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Turismo do Estado de São Paulo, gerida técnica, administrativa e financeiramente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear, órgão do Ministério da Ciência e Tecnologia, e associada à Universidade de São Paulo.