

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Instituto de Ciências Básicas da Saúde  
Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica

**NÍVEIS DE LIPOPROTEÍNAS E  
APOLIPOPROTEÍNAS EM UMA AMOSTRA DE  
INDIVÍDUOS DESCENDENTES DE JAPONESES  
DA REGIÃO DE CASCAVEL (PR)**

**LEANDRO PARZIANELLO**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Janice Carneiro Coelho

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas,  
com área de concentração em Bioquímica, da Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências  
Biológicas– Bioquímica

Porto Alegre, 2002

*“Cada pessoa em sua existência pode ter duas atitudes: construir ou plantar.*

*Os construtores podem demorar anos em suas tarefas,  
mas um dia terminam aquilo que estavam fazendo.*

*Então param e ficam limitados por suas próprias paredes.*

*A vida perde o sentido quando a construção acaba.*

*Mas existem os que plantam.*

*Estes, as vezes, sofrem com tempestades, com as estações,  
e raramente descansam.*

*Mas ao contrário de um edifício, o jardim jamais pára de crescer.*

*E, ao mesmo tempo que exige atenção do jardineiro,  
também permite que, para ele, a vida seja uma grande aventura.*

*Os jardineiros sempre se reconhecerão entre si porque sabem  
que na história de cada planta está o crescimento*

*de toda a Terra.”*

*(Paulo Coelho)*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, criador do universo.

Aos meus pais, Nivaldo e Marines, meus irmãos, Leonardo e Marsel, pelo incentivo e apoio durante o trabalho.

A Janice Carneiro Coelho, orientadora, pelo aprendizado e oportunidade a mim confiada.

A Lisiane Dalle Mulle, pelas orientações dadas.

A Joiza Lins Camargo, pela ajuda prestada na realização das análises laboratoriais.

A Carmen Pilla, pelo constante apoio e disponibilidade na contribuição deste trabalho.

Ao Antonio Assakura, pela dedicação ao trabalho.

Ao Serviço de Genética do Hospital de Clínicas, pelo convívio agradável.

Ao Laboratório de Pesquisa, sendo representado por Afonso Barth, pela amizade e convívio agradável.

A Ana Maria Feoli, pelo auxílio neste trabalho.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação, tornando este período agradável e rico nas trocas de experiências.

Ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Bioquímica pela oportunidade da realização do mestrado.

Ao CNPq pelo auxílio.

Ao Laboratório Parzianello, pela oportunidade concedida em busca do conhecimento e também auxílio à pesquisa.

A LABTEST DIAGNOSTICA, representada pela empresa Centerlab-PR, pela doação dos kits bioquímicos.

A Labmax-PR, representante da DYASIS INTERNATIONAL SYSTEM, pela doação do Kit utilizado na pesquisa.

A ANALISE-SP, representante da empresa SEBIA, pela doação do kit de eletroforese de lipoproteínas.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1	Esquema ilustrativo da lipoproteína	17
Figura 1.2	Esquema demonstrando os principais caminhos envolvendo o metabolismo das quilomicras pelo intestino e síntese de VLDL pelo fígado	20
Figura 1.3	Lipoproteínas – Sistema metabólico exógeno e endógeno centralizado no fígado	28
Figura 3.1	Divisão e numeração dos grupos apresentados neste trabalho	44
Figura 3.2	Esquema de reação para a dosagem de triglicerídios em aparelho Cobas Mira	47
Figura 3.3	Esquema de reação para a dosagem de colesterol total em aparelho Cobas Mira	48
Figura 3.4	Esquema de reação para a dosagem de HDL-colesterol em aparelho Cobas Mira	49
Figura 3.5	Esquema de reação para a dosagem de LDL-colesterol em aparelho Cobas Mira	50
Figura 3.6	Esquema de reação para a dosagem da apolipoproteína A-I em aparelho Cobas Mira	51
Figura 3.7	Esquema de reação para a dosagem da apolipoproteína B em aparelho Cobas Mira	52

Figura 3.8	Esquema da realização da eletroforese de lipoproteína em aparelho Hydasis System	55
Figura 4.1	Níveis de triglicerídios (mg/dL) em indivíduos com ou sem ascendência oriental	58
Figura 4.2	Níveis de triglicerídios, levando-se em consideração as faixas etárias de cada grupo	59
Figura 4.3	Níveis de colesterol total (mg/dL) em indivíduos com ou sem ascendência oriental	60
Figura 4.4	Níveis de colesterol total, levando-se em consideração as faixas etárias de cada grupo	61
Figura 4.5	Níveis de HDL-colesterol (mg/dL) em indivíduos com ou sem ascendência oriental	62
Figura 4.6	Níveis de HDL-colesterol, levando-se em consideração as faixas etárias de cada grupo	64
Figura 4.7	Níveis de LDL-colesterol (mg/dL) em indivíduos com ou sem ascendência oriental	65
Figura 4.8	Níveis de LDL-colesterol, levando-se em consideração as faixas etárias de cada grupo	66
Figura 4.9	Níveis de VLDL-colesterol (mg/dL) em indivíduos com ou sem ascendência oriental	68
Figura 4.10	Eletroforese de lipoproteínas	71
Figura 4.11	Gráficos das eletroforeses de lipoproteínas, por densitometria	72

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1	Comparação dos processos lipoprotêicos	19
Tabela 1.2	Classificação das apolipoproteínas	30
Tabela 1.3	Valores referenciais das dosagens referidas neste trabalho, de acordo com a Organização Mundial da Saúde	39
Tabela 1.4	Classificação das Hiperlipoproteinemias	40
Tabela 1.5	Classificação das Hipolipoproteinemias	41
Tabela 3.1	Subdivisão do grupo controle e oriental em faixas etárias e número de participantes em cada uma	43
Tabela 4.1	Níveis de apolipoproteínas A-I e B, baseado nos valores das dosagens de TG, CT, HDL. LDL	69
Tabela 4.2	Níveis de lipoproteínas e apolipoproteínas nos indivíduos japoneses, baseado nos valores de triglicerídios	70

## ABREVIATURAS

TG	Triglicerídios
HDL	Lipoproteína de densidade alta
LDL	Lipoproteína de densidade baixa
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa
LPL	Lipoproteína lipase
HL	Lipase hepática
LCAT	Lecitina colesterol acil transferase
FFA	Ácido graxo livre
ACAT	Acil-COA colesterol acil transferase
CETP	Proteína transferidora de ésteres de colesterol
DAC	Doença arterial coronariana
NHLBI	Instituto Nacional do Coração, Pulmão e Sangue
DCV	Doença cardiovascular
NCEP	Programa Nacional Educacional de Colesterol
OMS	Organização Mundial da Saúde
rpm	Rotação por minuto
ANOVA	Análise de variância
ATP	Adult Treatment Program



## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>	12
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	14
1.1 Aspectos Gerais sobre o Colesterol	14
1.2 Absorção Intestinal dos Lipídios	16
1.3 Metabolismo das lipoproteínas	18
1.3.1 Quilomicra	18
1.3.2 VLDL	21
1.3.3 IDL	22
1.3.4 LDL	22
1.3.4.1 LDL subfrações	23
1.3.4.2 Receptores da LDL	24
1.3.5 HDL	25
1.3.5.1 Subclasses da HDL	26
1.3.5.2 Transporte Reverso do colesterol	27
1.4 Apolipoproteínas	29
1.4.1 Apolipoproteína A	29
1.4.2 Apolipoproteína B	31
1.4.3 Apolipoproteína C	31
1.4.3.1 Distúrbio metabólico associado a deficiência da apo CII	32
1.4.4 Apolipoproteína D	32

1.4.5	Apolipoproteína E	33
1.5	Deficiência da Lipoproteína Lipase	33
1.6	Doença inflamatória – Aterosclerose	34
1.7	Significado clínico das dosagens referidas neste trabalho	35
1.7.1	Triglicerídios	35
1.7.2	Colesterol total	36
1.7.3	HDL-colesterol	36
1.7.4	LDL-colesterol	37
1.7.5	Apolipoproteína A-I	37
1.7.6	Apolipoproteína B	37
1.7.7	Eletroforese de lipoproteínas	38
1.8	Valores referenciais das dosagens	38
1.9	Significado clínico de alterações no metabolismo lipoprotéico	38
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b>	<b>42</b>
2.1	Geral	42
2.2	Específicos	42
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>43</b>
3.1	Amostra	43
3.2	Coleta de amostras	44
3.3	Análise das amostras	45
3.4	Métodos utilizados	46
3.4.1	Dosagem de Triglicerídios	46
3.4.2	Dosagem de Colesterol total	47
3.4.3	Dosagem de HDL-colesterol	48
3.4.4	Dosagem de LDL-colesterol	49

3.4.5	Dosagem da Apolipoproteína A-I	51
3.4.6	Dosagem da apolipoproteína B	52
3.4.7	Eletroforese de lipoproteína	53
3.5	Análises estatísticas	56
<b>4</b>	<b>RESULTADO</b>	<b>57</b>
4.1	Níveis de Triglicerídios	57
4.2	Níveis de Colesterol total	59
4.3	Níveis de HDL-colesterol	62
4.4	Níveis de LDL-colesterol	64
4.5	Níveis de VLDL-colesterol	67
4.6	Níveis de Apolipoproteína A-I e Apolipoproteína B	68
4.7	Eletroforese de lipoproteína	71
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>73</b>
5.1	Triglicerídios	73
5.2	Colesterol total	76
5.3	HDL-colesterol	78
5.4	LDL-colesterol	80
5.5	VLDL-colesterol	81
5.6	Apolipoproteína A-I e B	82
5.7	Eletroforese de lipoproteína	84
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>86</b>
<b>7</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>89</b>
<b>ANEXO</b>		<b>105</b>

## RESUMO

Dislipidemia são alterações nas concentrações dos lipídios no organismo, e são divididos em hipo e hiperlipidemias. As hiperlipidemias possuem maior importância clínica, frequentemente associadas com um aumento no risco em desenvolver outras doenças, como doenças coronarianas, pancreatites, etc. Altas concentrações dos lipídios plasmáticos, principalmente colesterol total, estão associados com doenças coronarianas. Altos níveis de triglicerídios e baixos níveis de HDL-colesterol, também são fatores que predispõem a doenças cardiovasculares. Os níveis de triglicerídios podem ter várias causas: como a dieta ou alterações relacionadas ao metabolismo lipídico. Este estudo foi composto por 96 indivíduos descendentes de japoneses residindo no Sul do Brasil (Cascavel-PR). O objetivo deste trabalho foi analisar alterações nos lipídios plasmáticos em uma população específica – indivíduos descendentes de japoneses residentes na região de Cascavel (PR) . Foram determinados os níveis de triglicerídios, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, VLDL-colesterol, apolipoproteína A-I e B e o padrão eletroforético de lipoproteínas em 96 indivíduos japoneses entre 10 a 89 anos. Para os níveis de triglicerídios, 18,7% dos indivíduos descendentes de japoneses obtiveram valores acima de 200 mg/dL.. Quando relacionamos os níveis de colesterol total, 69,7% dos indivíduos descendentes de japoneses possuem níveis acima da normalidade. Observamos dois padrões eletroforéticos de lipoproteínas na população japonesa; 10,4% desses

indivíduos obtiveram alterações na banda pré-beta relacionada ao VLDL-colesterol e 8,3% obtiveram alterações nas bandas da origem (Quilomicra) e na banda pré-beta.

# 1 INTRODUÇÃO

Os lipídios biológicos constituem um grupo de compostos que, apesar de quimicamente diferentes entre si, exibem a sua insolubilidade em água como característica definidora e comum a todos (*Lehninger et al., 1995*). Os lipídios têm um papel importante praticamente em todos os aspectos da vida, servindo como hormônios ou precursores de hormônios, auxiliando na digestão como depósitos de fonte de energia metabólica, agindo como componentes estruturais das biomembranas, formando isolamento para permitir a condução nervosa e evitar perdas de calor (*Voet et al., 1995*).

Os lipídios são formados, entre outros compostos, por: ácidos graxos, triglicerídeos e fosfolipídeos. O colesterol, considerado um lipídio, é um álcool monoídrico não saturado da classe dos esteróides. Ácidos graxos são os combustíveis de alta energia metabólica. A forma de armazenamento dos ácidos graxos é através de ésteres de glicerol, os triglicerídios. Os principais locais de metabolismo de ácidos graxos são os músculos e o fígado, enquanto que seu armazenamento ocorre nos tecidos adiposos (*Rifai et al., 1997*).

## 1.1 Aspectos gerais sobre o Colesterol

O colesterol, encontrado praticamente em todas as células e líquidos orgânicos, é um álcool sólido contendo 27 átomos de carbono, e que possui o

esqueleto tetracíclico do ciclopentanoperidrofenantreno. É o ponto de partida de muitas vias metabólicas, que incluem a síntese de vitamina D , dos hormônios esteroides e o metabolismo dos ácidos biliares.

A dieta média da população contém 400 a 700 mg de colesterol. Uma quantidade semelhante existe no intestino, proveniente da secreção biliar e da renovação das células da mucosa. Praticamente todo o colesterol no intestino está presente na forma não-esterificada (livre), pois o colesterol esterificado na dieta é rapidamente hidrolisado por colesterol esterases nas secreções do pâncreas e do intestino delgado (*Wilson e Rudell, 1994*).

Para ser absorvido, o colesterol não esterificado deve inicialmente ser solubilizado, o que é obtido pela formação de micelas mistas, que contém ácidos graxos, monoglicerídeos , fosfolipídeos e ácidos biliares conjugados. Em média 30 a 60% do colesterol são absorvidos diariamente. A absorção máxima ocorre no intestino. Após a absorção pelas células da mucosa, o colesterol juntamente com os triglicerídeos, fosfolipídeos e várias apolipoproteínas específicas são acondicionadas em uma grande micela (*Ros, 2000*), onde penetram na circulação sanguínea por mecanismos específicos, explicados separadamente no texto abaixo.

Embora uma parte do colesterol do organismo seja derivada da ingestão alimentar, a maior parte é sintetizada pelo fígado e outros tecidos a partir de moléculas mais simples. A síntese hepática pode ser inibida pelo colesterol recém absorvido (*Dietschy et al., 1993*).

Uma vez sintetizado, o colesterol é transportado na forma de complexos, conhecidos por lipoproteínas (Figura 1.1). No compartimento vascular e na periferia é esterificado por ácidos graxos pelas enzimas do plasma e do interior

das células. Cerca de 70% do colesterol total do plasma está sob a forma de ésteres de colesterol.

Após penetração nas células, os ésteres são hidrolizados por lipases. Cerca de um terço da produção diária de colesterol é catabolizado para ácidos biliares, cuja síntese é de 200 a 400 mg/dia. Os ácidos biliares primários são conjugados com a glicina e penetram nos canalículos biliares (*Wilkvall, 1990*). Após atingir o intestino delgado, exercem um papel ativo na absorção do colesterol e lipídios (*Stravitz et al., 1993*).

## 1.2 Absorção intestinal dos lipídios

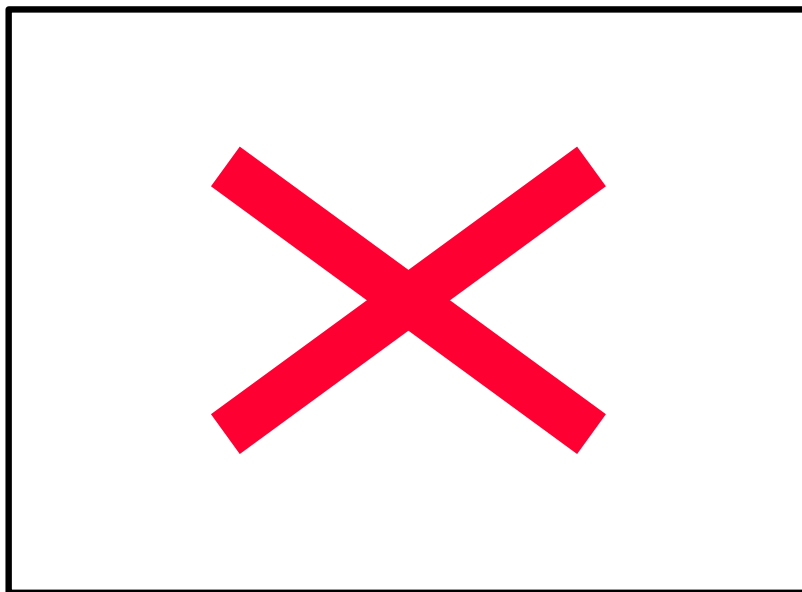
Para o organismo fazer uso dos lipídios da dieta, eles necessitam primeiro, serem absorvidos do intestino delgado. Como, essas moléculas são apolares, são essencialmente insolúveis no ambiente aquoso do intestino. Para absorção do lúmen para as células da mucosa, os lipídios devem ultrapassar duas barreiras funcionais, a camada hidrofílica e a membrana em escova do intestino (*Thomson et al., 1993*). A entrada de produtos lipídicos na membrana em escova pode ocorrer por um processo passivo, de baixo gradiente (*Zakim, 1996*) ou ser carregado por proteínas ligadoras associadas à membrana (*Stremmel et al., 1992*). A emulsificação (solubilização) dos lipídios da dieta é acompanhada pelos sais biliares, estes são armazenados na vesícula biliar e secretados logo após a ingestão de gordura.

A emulsificação das gorduras da dieta contribui com lipases pancreáticas (lipase e fosfolipase A<sub>2</sub>) acessíveis (*Carrier et al., 1993*). Estas



enzimas excretadas no intestino pelo pâncreas, geram ácidos graxos livres e mistura de mono e diglicerídios da dieta (*Marleen et al.,1998*). Lipases pancreáticas degradam os triglicerídios nas posições 1 e 3 consecutivamente, para gerar 1,2 diacilglicerídios e 2 gliceróis. Os produtos das lipases pancreáticas são difundidos para dentro das células epiteliais intestinais, onde ocorre a re-síntese dos triglicerídios (*Lehner,1995*).

Os triglicerídios e o colesterol da dieta e aquele sintetizado pelo fígado são solubilizados em complexos lipídios-proteínas. Esses complexos contém gotículas lipídicas de triglicerídios e ésteres de colesterol envolvidos por fosfolipídios polares e proteínas identificadas como apolipoproteínas (*Mahley et al.,1984*). Estes complexos variam no conteúdo de lipídios e proteínas, e são chamados de lipoproteínas. Na figura 1, podemos observar um desenho esquemático de uma lipoproteína.



*Figura 1.1 - Esquema ilustrativo da lipoproteína.*

### 1.3 Metabolismo das Lipoproteínas

Os lipídios são transportados por uma série de lipoproteínas.

As lipoproteínas (Quilomicra, HDL-*Lipoproteína de alta densidade*, LDL-*Lipoproteína de baixa densidade*, IDL-*Lipoproteína de densidade intermediária*, VLDL-*Lipoproteína de muito baixa densidade*) são partículas esféricas constituídas por um núcleo de lipídios neutros não polares (ésteres de colesterol e triglicerídios), envolvidos por substâncias relativamente polares (fosfolípídios, colesterol livre e proteínas).

A via biológica do metabolismo das lipoproteínas é extremamente complexa e inclui várias etapas importantes: 1) como síntese de apolipoproteínas e sua modificação intracelular e secreção, 2) modificação extracelular de apolipoproteínas e lipoproteínas, 3) hidrólise de triglicerídios e fosfolípídios pelas enzimas lipase-lipoprotêica (LPL) e lipase-hepática (HL), 4) transporte reverso de colesterol das células às lipoproteínas e 5) esterificação do colesterol pela enzima lecitina colesterol acil transferase (LCAT).

As funções fisiológicas das lipoproteínas envolvem uma série de processos metabólicos, nos quais ocorrem continuamente alterações e trocas entre as várias lipoproteínas, sendo referido como a cascata das lipoproteínas.

#### 1.3.1 Quilomicra

As quilomicra são acumuladas na mucosa intestinal como forma de transporte do triglicerídio e do colesterol exógeno para o resto do organismo.

Quilomicra são, portanto, as partículas formadas para mobilização dos lipídios exógenos (*Shiau et al., 1985*). Os lipídios predominantes nas quilomicra são os triglicerídios (Tabela 1.1). As apolipoproteínas que predominam antes da entrada das quilomicra na circulação sanguínea são apo B-48 , apo A-I, apo A-II e apo-IV (*Gordon, 1997*).

*Tabela 1.1 - Comparação dos Complexos Lipoprotéicos*

Complexo	Fonte	d (g/mL)	% Prot	% TG	% PL	% CE	% C	% FFA
Quilomicra	Intestino	< 0.95	1-2	85-88	8	3	1	0
VLDL	Fígado	0.95-1.006	7-10	50-55	18-20	12-15	8-10	1
IDL	VLDL	1.006-1.019	10-12	25-30	25-27	32-35	8-10	1
LDL	VLDL	1.019-1.063	20-22	10-15	20-28	37-48	8-10	1
* HDL <sub>2</sub>	Quilomicra VLDL	1.063-1.125	33-35	5-15	32-43	20-30	5-10	0
* HDL <sub>3</sub>	Quilomicra VLDL	1.125-1.210	55-57	3-13	26-46	15-30	2-6	6
Albumina	Tecido adiposo	> 1.281	99	0	0	0	0	100

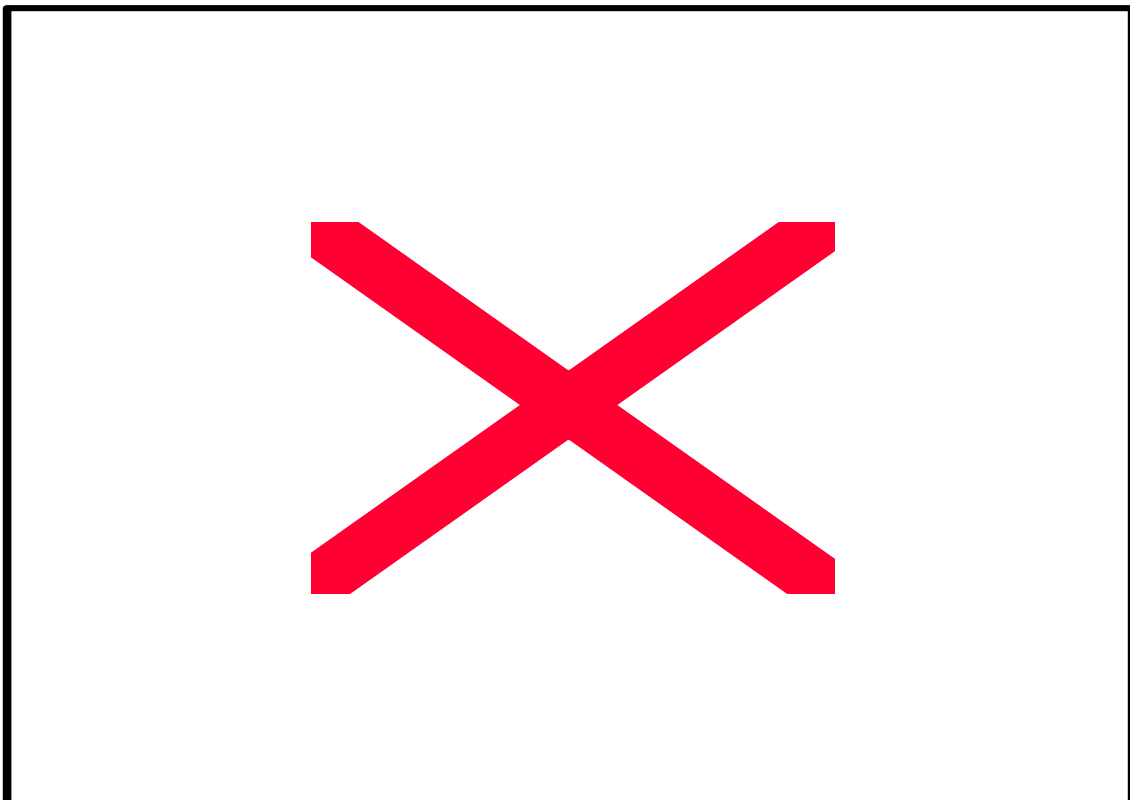
Prot - Proteínas; TG - Triglicerídios; PL - Fosfolipídeos; CE - Ésteres de colesterol; C – Colesterol livre; FFA – Ácido graxo livre.

\* HDL<sub>2</sub> e HDL<sub>3</sub> são derivados do HDL nascente, resultado da aquisição de ésteres de colesterol

As quilomicra deixam o intestino via sistema linfático e entram na circulação através da veia subclávica esquerda (*Hussain et al., 1996*). Na corrente sanguínea, as quilomicra adquirem a apo C-II e a apo E das HDLs plasmáticas. Nos capilares do tecido adiposo e músculos, os ácidos graxos são removidos dos triglicerídios pela ação da lipoproteína lipase (LPL), a qual encontra-se na superfície das células endoteliais dos capilares. Sob condições fisiológicas normais (Figura 1.2), as quilomicra são rapidamente hidrolisadas e reduzidas significativamente de tamanho: 40nm a 70 nm (*Mamo, 1995*). A apo C-II ativa a LPL na presença de fosfolipídios. Os ácidos graxos são então

absorvidos pelos tecidos e o esqueleto de glicerol dos triglicerídios retorna, via corrente sangüínea, para o fígado e rins. O glicerol é convertido à diidroxiacetona fosfato, um intermediário da via glicolítica. Durante a remoção dos ácidos graxos, uma porção substancial de fosfolipídios, apo A e apo C é transferida para as HDLs. A perda da apo C-II previne as quilomicra remanescentes de futura degradação pela LPL.

As quilomicra remanescentes, contendo principalmente colesterol, apo E e apo B-48 , são entregues e utilizadas pelo fígado através do reconhecimento dos receptores da célula hepática à apo E. Um esquema do metabolismo das quilomicra é demonstrado na figura 1.2.



FFA - ácido graxo livre; LPL - lipoproteína lipase; HL - lipase hepática Fonte: Adaptado de Mahley, R,W,: Biochemistry and physiology of lipid and lipoprotein metabolism 1995, p 1369

*Figura 1.2 - Esquema demonstrando os principais caminhos envolvendo o metabolismo das quilomicra pelo intestino e síntese de VLDL pelo fígado*

A função das quilomicra, é a entrega dos triglicerídios exógenos para o tecido adiposo e músculos, e do colesterol ao fígado (*Marleen et al., 1998*).

### 1.3.2 VLDL

A ingestão de uma dieta rica em gorduras e carboidratos, necessários pela demanda do organismo, leva à conversão dos mesmos em triglicerídios no fígado. Esses triglicerídios são empacotados e liberados na circulação e entregues a vários tecidos (principalmente músculos e tecido adiposo) para armazenamento ou produção de energia através da  $\beta$ -oxidação mitocondrial e peroxissomal. Em adição aos triglicerídios, as VLDLs contém colesterol, ésteres de colesterol e apolipoproteínas (B-100, C-I, C-II, C-III e E). Como as quilomicra, as VLDLs adquirem apo C e apo E das HDLs plasmáticas. A porção do ácido graxo das VLDLs é liberada ao tecido adiposo e músculos da mesma maneira que as quilomicra, através da LPL. A ação da LPL unida à perda de certas apolipoproteínas (C) convertem a VLDL a IDL, também denominada de VLDL remanescente.

A VLDL é, portanto, a partícula formada para transportar o triglicerídio endógeno para as tecidos extra hepáticos. Um esquema do metabolismo das VLDL é demonstrado na figura 1.2.

### 1.3.3 IDL

As IDLs são formadas pela perda de triglicerídios das VLDLs. O destino da IDL é a conversão em LDL ou absorção direta pelo fígado. A IDL é convertida a LDL pela remoção de triglicerídios. O fígado utiliza a IDL após a interação com receptores de LDL formando complexos, os quais sofrem endocitose pela célula. Para os receptores hepáticos da LDL reconhecerem a IDL é requerido a presença de ambas apo B-100 e apo E.

### 1.3.4 LDL

A síntese de colesterol, para ser utilizado como componente de membrana é realizada por um dos dois caminhos: ou ele é sintetizado *de novo* a partir dos limites celulares, ou ele é suprido de fontes extracelulares, pelas quilomicra e LDLs. Como indicado acima, o colesterol exógeno que passa para as quilomicra é fornecido ao fígado pela interação das quilomicra remanescentes com os seus receptores. As LDLs são os principais carreadores plasmáticos de colesterol a todos os tecidos.

As LDLs são absorvidas pelas células via receptores de LDL. A absorção da LDL ocorre predominantemente no fígado (75%), adrenais e tecido adiposo. Como nas IDLs, as LDLs interagem com os receptores da LDL requerendo a presença da apo B-100, a apolipoproteína exclusiva da LDL. As vesículas da membrana endocíticas (endossomo) fundem-se com os lisossomos, pela qual as apolipoproteínas são degradadas e os ésteres de

colesterol são hidrolizados para formar colesterol livre. O colesterol é então incorporado nas membranas plasmáticas dependendo da necessidade (Schneider, 1993). Excesso de colesterol intracelular é reesterificado pela acil-CoA colesterol acil transferase (ACAT) para armazenamento intracelular. A ACAT, é uma enzima intracelular que cataliza a formação de ésteres de colesterol a partir de colesterol e ácidos graxos de cadeia longa (Chang et al., 1997; Burnett et al., 1999) e a sua atividade está aumentada na presença de colesterol intracelular.

#### 1.3.4.1 Subfrações da LDL

Foram identificadas por ultracentrifugação e por eletroforese seis principais subclasses da lipoproteína LDL.

-Padrão B: São as duas menores e mais densas das subclasses, sendo denominadas como as mais aterogênicas das subclasses da LDL (Austin et al., 1994, Krauss, 1995).

-Padrão A: São as duas maiores e menos densas das seis subclasses da LDL (McNamara et al., 1992).

-Padrão AB: São formadas por partículas de tamanho e densidade intermediária às duas anteriores

A conversão da LDL densa (padrão B) para a menos densa (padrão A) justifica uma regressão de 50% na aterosclerose (Gardner et al., 1996). A LDL densa é um fator de risco para doenças cardiovasculares, mesmo em pacientes que possuem níveis normais de colesterol.

#### 1.3.4.2 Receptores da LDL

O receptor da LDL é uma proteína da superfície celular que regula o colesterol plasmático por absorção específica das partículas de LDL da corrente circulatória (*Smilde et al., 2001*). É o principal carreador plasmático de colesterol do fígado aos tecidos periféricos, principalmente para as adrenais e para o tecido adiposo, também podendo retornar ao fígado. A absorção de colesterol da LDL ocorre devido a interação da LDL com os seus receptores (também chamado de receptor apo B-100/apo E) (*Yamamoto, 1996*). A única apolipoproteína presente na LDL é a B-100, a qual é necessária para a interação, lipoproteína-receptor.

O receptor é um polipeptídeo de 839 aminoácidos que atravessa a membrana plasmática. Um domínio extracelular é responsável pela ligação entre a apo B-100/apo E. O domínio intracelular é responsável pelo agrupamento dos receptores da LDL em regiões da membrana plasmática denominadas “coated pit”. Uma vez a LDL ligada ao receptor, o complexo é rapidamente internalizado. A bomba de próton dependente de ATP diminui o pH dos endossomos, o que resulta na dissociação da LDL do receptor. A porção da membrana endossomal ancorada no receptor é então reciclada à membrana plasmática e o LDL contido nos endossomos funde-se com os lisossomos. Hidrolases ácidas dos lisossomos degradam as apolipoproteínas liberando ácidos graxos e colesterol. O colesterol livre é tanto incorporado à membrana plasmática ou esterificado (pela ACAT) e armazenado na célula.

O nível de colesterol intracelular é regulado pela supressão da síntese de receptores da LDL e pela inibição da síntese de colesterol endógeno, ambas



induzidas por excesso de colesterol. O aumento do nível intracelular do colesterol resultado da absorção de LDL, possui efeito de ativação da ACAT, assim permitindo o armazenamento de colesterol nas células. Porém, o efeito na supressão da síntese de receptores da LDL causa uma diminuição na taxa pela qual a LDL e IDL são removidas do soro. Isto pode levar a um excesso na circulação dos níveis de colesterol e ésteres de colesterol, quando a entrada de gordura na dieta excede a necessidade do organismo. O excesso de colesterol tende a ser depositado na pele, tendões e mais gravemente nas artérias, levando a aterosclerose.

Um defeito nos genes que codificam o receptor da LDL resulta em uma remoção prejudicada de lipoproteínas contendo apo B da circulação, aumentando as concentrações de LDL (*Smilde et al., 2001*).

### 1.3.5 HDL

A HDL é sintetizada *de novo* no fígado e intestino delgado, rica em proteínas. Essas recentes HDLs formadas são praticamente destituídas de colesterol e ésteres de colesterol. As principais apolipoproteínas da HDL são A-I, C-I, C-II e E (*Rader, 1996*). De fato, a maior função da HDL é atuar como estoque circulante de apo C-I, C-II e E.

As HDLs são convertidas em partículas esféricas pela acumulação de ésteres de colesterol. Esta acumulação converte a HDL nascente em HDL<sub>2</sub> e HDL<sub>3</sub>. Qualquer presença de colesterol livre nas quilomocras e VLDL remanescentes (IDL), pode ser esterificado pela ação de uma enzima

associada a HDL, a lecitina colesterol aciltransferase (LCAT). A LCAT é sintetizada no fígado e assim chamada devido a transferência de ácido graxo da posição C-2 da lecitina para o C-3-OH do colesterol, gerando o éster de colesterol e a lisolecitina. A atividade da LCAT requer interação com a apo A-I , a qual é encontrada na superfície da HDL.

A HDL rica em colesterol retorna ao fígado, onde é endocitada. A absorção hepática da HDL, pode ser mediada através de um receptor da apo A-I específico da HDL ou através de interações entre os lipídios. Os macrófagos também absorvem a HDL por interações entre receptores da apo A-I, podendo a HDL adquirir colesterol e apo E destas células. A adição de apo E na HDL leva a um aumento na sua absorção e catabolismo pelo fígado. A HDL também pode obter o colesterol a partir das células de membrana, diminuindo o nível de colesterol intracelular, dessa maneira os ésteres de colesterol armazenados nas próprias células são mobilizados e substituem a membrana plasmática.

Os ésteres de colesterol da HDL também podem ser transferidos para a VLDL e LDL pela ação da enzima CETP (proteína transferidora de ésteres de colesterol) (*Tall, 1995*). Esta proteína permite que o excesso de colesterol celular retorne ao fígado através de receptores da LDL e da HDL (*Bagdade et al., 1991*).

#### 1.3.5.1 Subclasses da HDL

A lipoproteína HDL compreende quatro subclasses variando em tamanho e composição, e a existência dessas várias partículas está

relacionada a um sistema de transporte lipídico organizado que representa o remodelamento e provável reciclagem das macromoléculas em resposta a ação de enzimas lipolíticas e proteínas transferidoras de lipídios. (Fidge, 1999).

As duas maiores subclasses que compõem a HDL foram identificadas por ultracentrifugação:

-HDL<sub>2</sub>: Esta é a maior e mais leve das duas subclasses da HDL, e a que protege mais contra riscos para doenças coronarianas (Franceschini et al., 1987; Lamarche et al., 1997).

-HDL<sub>3</sub>: Esta é a menor e mais densa, e protege menos o organismo quando comparado a HDL<sub>2</sub> (Drexel et al., 1992).

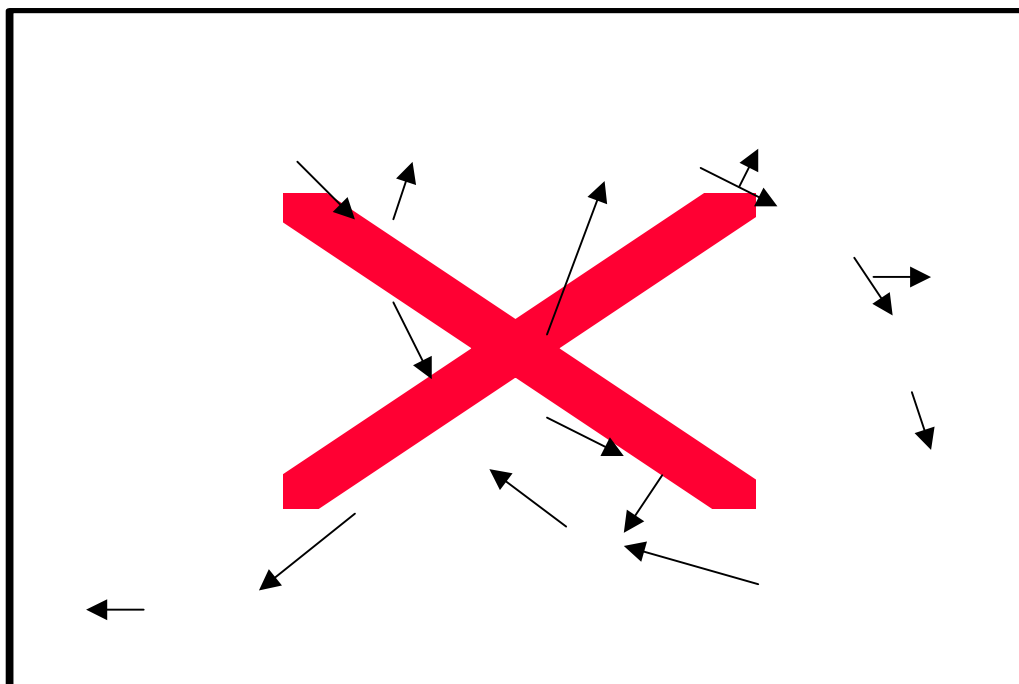
Outras subclasses foram identificadas por eletroforese. Estão relacionadas em ordem de aumento de densidade e diminuição no tamanho: HDL<sub>2b</sub>, HDL<sub>2a</sub>, HDL<sub>3a</sub> e HDL<sub>3c</sub>.

#### 1.3.5.2 Transporte reverso do colesterol

As HDLs nascentes captam colesterol não esterificado dos tecidos periféricos, formando as HDL maduras. Estas levam o colesterol para o fígado por duas vias: diretamente ou transferindo os ésteres de colesterol para outras lipoproteínas (principalmente as VLDL). Uma vez no fígado, o colesterol proveniente dos tecidos pode ser reaproveitado, participando de outras vias metabólicas, ou excretado na bile (via eliminação), neste caso, com reabsorção de cerca de dois terços do mesmo (ciclo entero-hepático).

Resumidamente *Brites et al. (2000)* demonstram quatro principais caminhos mais relevantes no transporte reverso do colesterol; (1) efluxo do colesterol livre das células extrahepáticas e sua absorção por aceptores iniciais, (2) esterificação do colesterol livre pela LCAT, (3) transferência dos ésteres de colesterol sintetizados pela HDL para lipoproteínas contendo apo B e troca com os triglicerídeos, transportado pela CETP e (4) absorção hepática dos ésteres de colesterol formados.

A Figura 1.3 resume esquematicamente o metabolismo acima mencionado das lipoproteínas.



Fonte: Publicações da Labtest-Diagnostica, 1997,

*Figura 1.3 – Lipoproteínas - Sistema metabólico exógeno e endógeno centralizado no fígado.*

## 1.4 Apolipoproteínas

Associadas às lipoproteínas, há o componente protéico chamado de apolipoproteínas (apo). Estas classificam-se em cinco grupos principais e numerosos subgrupos. São eles: apo A (A-I, A-II e A-IV), apo B (B-100 e B-48), apo C (C-I, C-II e C-III), apo D e apo E.

Os principais grupos e subgrupos diferem em suas estruturas primárias, secundárias e terciárias, no comportamento físico-químico, em sua função e distribuição nas várias formas de lipoproteínas (tabela 1.2), bem como seus níveis no plasma. Cada uma destas etapas envolve uma ação coordenada por várias proteínas. Assim, qualquer mutação em uma destas proteínas pode resultar em padrões lipoprotéicos anormais e contribuir para o aparecimento de doenças, como arterosclerose.

### 1.4.1 Apolipoproteína A

As apolipoproteínas A constituem as principais proteínas encontradas na HDL. Os genes que codificam a apo A-I, A-II, A-IV estão localizados no braço longo do cromossomo 11, 10 e 11 respectivamente (*Birchbauer et al., 1993*).

A síntese da apo A-I é predominantemente hepática e intestinal, estimulando o efluxo de colesterol das células periféricas e fornecendo substrato para ação da LCAT. Ela está envolvida na transformação de HDL nascente em maduro. Vários estudos epidemiológicos e clínicos revelaram uma

associação entre os baixos níveis de HDL e apo A-I e o aumento de infarto do miocárdio (*Kazumi et al., 1997*).

A apo A-II é exclusivamente sintetizada no fígado. As funções propostas para a apo A-II em relação à ativação da LPL e inibição da LCAT ainda estão para serem confirmadas (*Mietus-Snyder et al., 1990*).

A apo A-IV é um constituinte da quilomicra na linfa, sintetizado no fígado, sua síntese é controlada por fatores hormonais (insulina) e nutricionais (gorduras).

*Tabela 1.2 – Classificação das Apolipoproteínas*

Apolipoproteína	Peso molecular (DA)	Associações	Funções e comentários
Apo A-I	29.016	Quilomicra, HDL	Maior proteína da HDL Ativa a LCAT
Apo A-II	17.400	Quilomicra, HDL	Principalmente da HDL Aumenta a atividade da HL
Apo A-IV	46.000	Quilomicra, HDL	Presentes em lipoproteínas ricas em triglicerídios
Apo B-48	241.000	Quilomicra	Exclusivamente encontrada nas Quilomicra
Apo B-100	513.000	VLDL, IDL, LDL	Maior proteína da LDL Liga-se a receptores da LDL
Apo C-I	7.600	Quilomicra, VLDL, IDL, HDL	Pode também ativar a LCAT
Apo C-II	8.916	Quilomicra, VLDL, IDL, HDL	Ativação da LPL
Apo C-III	8.750	Quilomicra, VLDL, IDL, HDL	Inibição da LPL
Apo D	33.000	HDL	Estreitamente associada com LCAT
Apo E	34.000	Quilomicra remanescente, VLDL, IDL, HDL	Ligação aos receptores da LDL

#### 1.4.2 Apolipoproteína B

A apo B é a principal porção protéica em todas as lipoproteínas diferentes da HDL. O gene que codifica os dois subgrupos de apo B está localizado no cromossomo 2 (*Teng et al., 1990*).

A apo B-100 faz parte das lipoproteínas hepáticas, sendo expressa e secretada pelos hepatócitos, como parte da VLDL, com subsequente hidrolisação por lipases (HL e LPL), para tornar-se LDL (*Cladaras et al., 1986*).

A apo B-48, sintetizada pelas células intestinais é um importante componente para agrupar e secretar a quilomicra, sendo a apo B-48 exclusivamente encontrada nesta lipoproteína.

#### 1.4.3 Apolipoproteína C

O fígado é o principal local para a síntese dessas apolipoproteínas. O gene que as codifica está localizado no cromossomo 19 (*Das et al., 1987*).

A apo C-I é componente principal da VLDL, sendo capaz de ativar moderadamente a LCAT.

A apo C-II é um cofator da LPL extra-hepática, a enzima responsável pela hidrólise de lipoproteínas ricas em triglicerídeos, VLDL e quilomicra. Na ausência de apo C-II, a atividade da LPL é prejudicada. A apo C-II também inibe a ligação de VLDL e quilomicra a receptores hepáticos, endereçando estas lipoproteínas à depuração extra-hepática.

A apo C-III é componente do quilomicra e da VLDL, e é capaz de inibir a LPL (*Jeanpierre et al., 1984*).

#### 1.4.3.1 Distúrbio metabólico associado a deficiência da apo CII

A deficiência da apo CII é um erro inato do metabolismo autossômico recessivo. Esta deficiência resulta em uma alteração funcional na LPL. Geralmente manifesta-se entre os 13 e 60 anos de idade. O sintoma predominante neste distúrbio, são dores abdominais, causados por ocorrências repetidas de pancreatite (*Scriver et al., 2001*).

#### 1.4.4 Apolipoproteína D

Foi sugerido que a apo D possa funcionar como uma proteína de transferência, auxiliando no movimento de ésteres de colesterol e triglicerídeos entre a VLDL e HDL. O gene que codifica a apo D está localizado no cromossomo 3 (*Drayna et al., 1987*).



#### 1.4.5 Apolipoproteína E

O local de síntese primária da apo E é o fígado, em menor extensão o intestino e cérebro. O gene responsável pela sua síntese está localizado no cromossomo 19 (*Lin-Lue et al., 1985*).

A apo E, é incorporada na HDL nascente, sob a influência da LCAT (*Scott, 1985*). A HDL acumula colesterol, e a apo E é, então rapidamente transferida para a VLDL e para a quilomicra, onde permanece enquanto a lipoproteína é catabolizada para IDL ou quilomicra remanescente, respectivamente.

#### 1.5 Deficiência da Lipoproteína Lipase (LPL)

A deficiência familiar da LPL é uma doença rara, estimada, na população, em 1:1.000.000 de indivíduos. É uma deficiência autosômica recessiva caracterizada pela acumulação excessiva de quilomicra no plasma, juntamente com aumento na concentração da VLDL. Esta doença manifesta-se na infância e se dá através de episódios de dores abdominais. Metade dos pacientes com esta deficiência apresentam xantomas eruptivos na pele devido a presença de quilomicronemia (*Scriver et al., 2001*).

A LPL está presente nas células endoteliais vasculares dos tecidos extra-hepáticos e é essencial para a hidrólise das quilomicra e VLDL, produzindo ácidos graxos que serão utilizados, pelos tecidos, como energia.

## 1.6 Doença inflamatória - Aterosclerose

Aterosclerose é uma doença inflamatória, que não está relacionada somente com a acumulação de lipídios nas paredes arteriais (Ros, 1999).

As lesões da aterosclerose representam uma série de respostas específicas celulares e moleculares (Ros, 1993) e as lesões ocorrem principalmente nas artérias.

O primeiro passo da aterosclerose é a disfunção endotelial, tendo como causa possível, o aumento do LDL-colesterol, radicais livres, hipertensão, alterações genéticas, entre outras.

A disfunção endotelial, resultado de danos, leva a respostas compensatórias que alteram as propriedades homeostáticas normais. Deste modo, as diferentes formas de dano aumentam a aderência ao endotélio de leucócitos e plaquetas, alterando a permeabilidade do mesmo. O dano induz também propriedades procoagulantes ao invés de anticoagulantes, e formação de moléculas vasoativas, citocinas e fatores de crescimento. Se não houver resposta ao processo inflamatório que neutralize ou remova os agentes agressores, o processo pode continuar indefinidamente. Ao contrário, a resposta estimula a migração e proliferação de células musculares lisas que interagem com a área inflamada, formando uma lesão intermediária. Não havendo combate ao processo, poderá haver engrossamento da parede arterial, sendo compensado por uma dilatação gradual. A resposta é mediada por monócitos e linfócitos T específicos em todas as fases da doença, migrando do sangue para a lesão.

Deste modo, a acumulação de células mononucleares, devido a migração e proliferação de células musculares lisas, leva a um alargamento e reestruturação da lesão, tornando-a recoberta por uma camada fibrosa, que consiste de um núcleo lipídico e tecido necrosado. Em um certo ponto, a parede arterial dilatada altera o fluxo sanguíneo.

A maior causa de dano ao endotélio, é a modificação da lipoproteína LDL por oxidação, glicação, agregação ou incorporação a imunocomplexos (Navab et al. 1996).

Quando as partículas de LDL são capturadas pela artéria, elas podem sofrer progressiva oxidação e serem internalizadas por macrófagos através de receptores na superfície destas células (Steinberg, 1997). A internalização leva à formação de peróxidos de lipídios facilitando a acumulação de ésteres de colesterol, resultando em células “espumosas” (Griendling & Alexander, 1997).

A remoção das LDL modificadas é parte importante no processo inicial e de proteção dos macrófagos na resposta inflamatória e redução dos efeitos negativos da LDL ao endotélio.

## 1.7 Significado clínico das dosagens referidas neste trabalho

### 1.7.1 Triglicerídios

A determinação dos triglicerídios ocupa lugar de destaque porque é um dado importante e necessário para a classificação e fenotipagem das

hiperlipoproteínas (*Patsch et al., 1992*). A elevação dos níveis de triglicerídios pode estar relacionada a várias doenças chamadas hiperlipidemias, sendo de causa primárias ou secundárias. Os principais fenótipos descritos por Frederickson que relacionam uma elevação nos triglicerídios são os tipos I, IIb, III, IV e V.

### 1.7.2 Colesterol-total

O grande dilema da arteriosclerose é que ela é um processo assintomático. Está ativa em todos os indivíduos e permanece sem qualquer manifestação por décadas. Estudos demonstraram uma correlação positiva entre os níveis de colesterol, mais especificamente do LDL-colesterol e o risco de doença arterial coronariana (*Castelli et al., 1986; Giannini, 1989*). Ao mesmo tempo foi evidenciado que os níveis de HDL-colesterol, são inversamente proporcionais ao risco de doença arterial coronariana (DAC).

### 1.7.3 HDL-colesterol

A HDL-colesterol tem um efeito protetor contra a prevalência da DAC (*Kalofoutis et al., 1999*). Estudos demonstram que os níveis são inversamente proporcionais à prevalência da DAC. Baixos níveis de HDL-colesterol é um forte fator de risco para DAC. (*Castelli et al., 1986; Jacobs et al., 1990*)

#### 1.7.4 LDL-colesterol

A LDL-colesterol está envolvida no transporte do colesterol para as células periféricas. Ela contribui para a formação de placas ateroscleróticas e está fortemente associada com a DAC (*Austin et al.,2000*).

#### 1.7.5 Apolipoproteína A-I

A determinação da apolipoproteína A-I representa um parâmetro mais discriminatório que a determinação típica dos lipídios nos estudos de enfermidades cardiovasculares. É um marcador da lipoproteína HDL (*Syvanne et al.,1995*) e os níveis plasmáticos estão inversamente relacionados com a DAC (*Buring et al.,1993*).

#### 1.7.6 Apolipoproteína B

A determinação da apolipoproteína B representa um parâmetro mais discriminatório da determinação da lipoproteína LDL nos estudos de enfermidades cardiovasculares. Apo B é a principal apolipoproteína da LDL (*Rader et al.,1994*) e sua concentração plasmática está associada positivamente com a DAC (*Lamarche et al.,1996*).

### 1.7.7 Eletroforese de lipoproteínas

A eletroforese oferece vantagens em fornecer simultaneamente e diretamente a medida do colesterol nas suas quatro principais classes de lipoproteínas (Quilomicra, LDL, VLDL e HDL), e a visualização das bandas (origem, beta, pré-beta e alfa) podem permitir a identificação de fenótipos incomuns (*Contois et al., 1999*).

### 1.8 Valores referenciais dos exames

Cada dosagem possui um valor referencial dentro dos quais os mesmos são considerados normais ou alterados. Esses valores são preconizados pela Organização Mundial da Saúde sendo os mesmos adotados neste trabalho.

Na tabela 1.3, apresentamos os valores referenciais para cada exame.

*Tabela 1.3 – Valores referenciais das dosagens referidas neste trabalho, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS)*

	VALORES REFERENCIAIS (mg/dL)
Triglicerídios	Normal: abaixo de 200 Limítrofe: de 201 a 500 Elevado: acima de 501
Colesterol total	Normal: abaixo de 200 Limítrofe: de 201 a 239 Elevado: acima de 240
HDL-colesterol	Normal: acima de 35
VLDL-colesterol	Normal: abaixo de 40
LDL-colesterol	Normal: abaixo de 130 Limítrofe: de 131 a 159 Elevado: acima de 160
Apolipoproteína A-I	Normal: 90 a 190
Apolipoproteína B	Normal: 50 a 100
Eletroforese de lipoproteínas	Quilomicra: 0.0% Beta lipoproteína (LDL): 38.6 a 69.4% Pré-beta lipoproteína (VLDL): 4.4 a 23.1% Alfa lipoproteína (HDL): 22.3 a 53.3%

### 1.9 Significado clínico de alterações no metabolismo lipoprotêico

Existem erros inatos do metabolismo que podem levar a hiper ou hipolipoproteinemias. Uma classificação atual destas dislipoproteinemias é mostrada nas tabelas 1.4 e 1.5.

A classificação destes distúrbios baseia-se em Frederickson (1964) e no NHLBI (National Heart, Lung and Blood Institute).

Tabela 1.4 – Classificação das Hiperlipoproteinemias

Lipoproteína (Aumento)	Aspecto do Plasma *	Colesterol Total	Triglicerídeo	LDL	HDL	Apolipoproteína	Eletroforese Lipoproteína	Fenótipo**
Quilomicra	Camada cremosa, infranadante límpido ou levemente turvo	Normal a moderadamente elevado	Pronunciadamente elevado	Normal	Normal a diminuído	↑ B-48 ↑ A-IV ↓↑ C-II	Faixa intensa na origem	Tipo I
LDL	Límpido, possível aumento de tom amarelo – alaranjado	Geralmente elevado	Normal	Elevado	Normal a diminuído	↑ B-100	Faixa β aumentada	Tipo IIA
LDL, VLDL	Límpido a levemente Turvo	Elevado	Elevado	Elevado	Normal a diminuído	↑ B-100	Faixa β e pré-β aumentadas	Tipo IIB
IDL	Turvo a opaco	Elevado	Elevado	Normal a diminuído	Normal a diminuído	↑ E-II ↓ E-III ↓↓ E-IV	Faixa β larga	Tipo III
VLDL	Turvo a opaco	Normal a levemente elevado	Moderado a pronunciadamente elevado	Normal	Normal a diminuído	↑↓ C-II ↑ B-100	Faixa pré-β aumentada	Tipo IV
VLDL, Quilomicra	Camada cremosa, infranadante turvo a opaco	Leve a moderadamente elevado	Pronunciadamente elevado	Normal	Normal a diminuído	↑↓ C-II ↑ B-48 ↑ B-100	Faixa intensa na origem, faixa pré-β aumentada	Tipo V
HDL	Límpido	Normal a moderadamente elevado	Normal	Normal	Elevado	↑ A-I ↑ A-II	Faixa α aumentada	Hiperalfalipoproteíemia

\* Após 16 horas a 4° C. \*\* Segundo Frederickson

Fonte: Adaptado de Burtis, C.A. e Ashwood, E.R.: Tietz - Fundamentos de Química Clínica 1998, p 374.



*Tabela 1.5 - Classificação das Hipolipoproteinemias*

Lipoproteína	Aspecto do Plasma *	Colesterol Total	Triglicerídio	LDL	HDL	Apolipoproteína	Eletroforese Lipoproteína	Fenótipo**
LDL	Límpido	Pronunciadamente diminuído	Diminuído	Ausente	Normal	↓↓ B-100	Faixa β ausente e pré-β diminuída	Abetalipoproteinemia
LDL	Límpido	Leve a pronunciadamente diminuído	Normal	Diminuído	Normal	↓ B-100	Faixa β diminuída	Hipobetalipoproteinemia
HDL	Límpido	Normal a diminuído	Normal	Normal	Ausente	↓↓↓ A-I ↓↓ A-II ?↓ C-III	Faixa α ausente	Analfalipoproteinemia
HDL	Límpido	Normal, diminuído ou aumentado	Normal a diminuído	Normal a aumentado	Diminuído	↓ A-I ↓↓ A-I	Faixa β ausente	Hipoalfalipoproteinemia

\* Após 16 horas a 4° C. \*\* Segundo Frederickson

Fonte: Adaptado de Burtis, C.A. e Ashwood, E.R.: Tietz - Fundamentos de Química Clínica 1998, p 374

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

O objetivo principal deste trabalho foi demonstrar alterações relacionadas aos níveis de triglicerídios, lipoproteínas e apolipoproteínas em indivíduos descendentes de japoneses que residem na região de Cascavel (PR).

### **2.2 Específicos**

Estabelecer os níveis de triglicerídeos, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, apolipoproteína A-1, apolipoproteína B e padrão eletroforético de lipoproteínas em amostras de sangue de indivíduos descendentes ou não de japoneses desta região.

Comparar os níveis de triglicerídeos, colesterol total, HDL-colesterol e LDL-colesterol de indivíduos com ascendência japonesa com os níveis de indivíduos sem ascendência e juntamente com dados da literatura, levando em consideração os níveis estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS).

### 3 MATERIAIS e MÉTODOS

#### 3.1 Amostra

Para este trabalho foram utilizados dois grupos de indivíduos:

Grupo controle: Noventa e seis indivíduos sem ascendência japonesa, que não possuíam diabetes, aterosclerose ou doença coronariana conhecida. Estes indivíduos eram provenientes da cidade de Cascavel (PR).

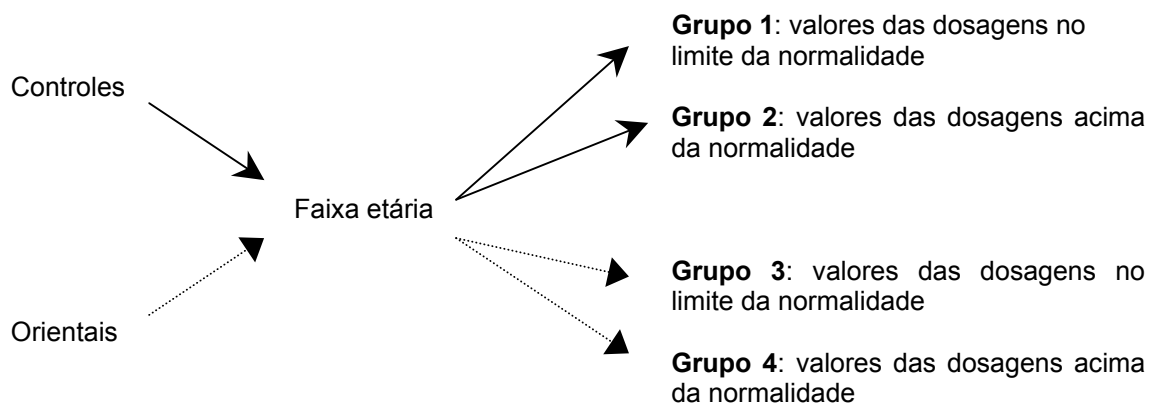
Grupo oriental: Noventa e seis indivíduos com ascendência japonesa, provenientes da mesma região do grupo controle e com os mesmos critérios de exclusão.

Estes dois grupos foram subdivididos em 7 outros grupos de acordo com a faixa etária de seus participantes. Na tabela 3.1 podemos observar as faixas etárias utilizadas e o número de indivíduos em cada uma delas.

*Tabela 3.1 – Subdivisão do grupo controle e oriental em faixas etárias e número de participantes em cada uma.*

Faixa etária	Número de indivíduos	
	Grupo controle	Grupo oriental
10 a 19	09	09
20 a 29	16	16
30 a 39	08	08
40 a 49	14	14
50 a 59	19	19
60 a 69	19	19
70 a 89	11	11

Dentro de cada faixa etária os indivíduos ainda foram divididos em outros dois grupos: aqueles que obtiveram valores das análises laboratoriais dentro dos limites normais estabelecidos para cada exame pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e os que obtiveram valores acima dos valores normais. Um esquema ilustrando a divisão e expondo a numeração dos grupos utilizada em todo o trabalho pode ser observado na figura 3.1.



*Figura 3.1 – Divisão e numeração dos grupos apresentados neste trabalho*

### 3.2 Coleta das Amostras

Para ambos os grupos, os indivíduos de origem japonesa e os sem ascendência oriental foram contatados previamente sobre a necessidade de os mesmos estarem em jejum num período de 12 a 14 hs. As coletas foram realizadas entre as 7:00 e 9:00 hs da manhã sob supervisão do mestrando, no

laboratório Parzianello em Cascavel (PR). Para cada faixa etária de indivíduo de origem japonesa era coletado um sem ascendência oriental.

O trabalho foi desenvolvido de acordo com as normas estabelecidas pela Comissão Científica de Pesquisa e Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Todos os indivíduos que participaram desta pesquisa foram informados sobre o motivo pelo qual eles estariam doando material (sangue) e assinaram o termo de consentimento informado.

Foi coletado 10 ml de sangue, através de punção venosa. As amostras foram centrifugadas a 5.000 rpm durante 10 min e o soro armazenado em recipientes adequados, sendo logo após congelado a  $-40^{\circ}$  C para posterior análise.

No término da coleta de todos os indivíduos, as amostras foram transportadas em um isopor contendo gelo seco e levadas ao Serviço de Genética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

### 3.3 Análises das amostras

As amostras permaneceram 10 dias congeladas a  $-40^{\circ}$  C, sendo descongeladas um dia anterior às análises laboratoriais.

As análises foram realizadas no Laboratório de Pesquisa do HCPA nos aparelhos automatizados Cobas Mira (Roche) e Hidrasys (Sebia). Através do aparelho Cobas Mira foram determinados os níveis de triglicerídios, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol. Já as determinações da apolipoproteína

A-1 e apolipoproteína B foram realizadas somente nos indivíduos de origem japonesa, cujo motivo é explicado no item Resultados

Pelo aparelho Hidrasys foi realizado a eletroforese de lipoproteínas do soro dos indivíduos de origem japonesa.

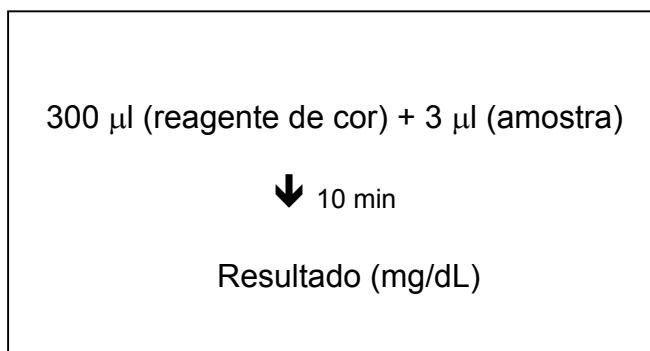
### 3.4 Métodos utilizados

#### 3.4.1 Dosagem de Triglicerídios

Este método foi desenvolvido de acordo com o preconizado pelo kit da Labtest-Diagnostica (2001). Baseia-se em um sistema enzimático com reação de ponto final, em amostras de soro. O glicerol liberado na hidrólise dos triglicerídios, catalisada pela lipase da lipoproteína é convertido pela ação da glicerolquinase em glicerol-3-fosfato, que é oxidado a dihidroxiacetona e peróxido de hidrogênio na presença da glicerolfosfato oxidase. A reação de acoplamento que ocorre entre peróxido de hidrogênio, 4-aminoantipirina e ESPAS é catalisada pela peroxidase produzindo a quinoneimina que tem máximo de absorbância em 540 nm. A intensidade da cor violeta formada é diretamente proporcional à concentração dos triglicerídios na amostra.

O reagente de cor é formado por uma solução tampão e enzimas; tampão 50 mmol/L, pH 6.5, acetato de magnésio 5 mmol/L, ESPAS 1 mmol/L, 4-aminoantipirina 0,7 mmol/L, ATP 0,3 mmol/L, glicerolquinase > 800 U/l, glicerolfosfato > 2500 U/l, lipase de lipoproteína > 100 KU/l, peroxidase > 350 U/l e azida sódica 1,54 mmol/L.

As determinações segundo o esquema da figura 3.2, foram realizadas no aparelho Cobas Mira.



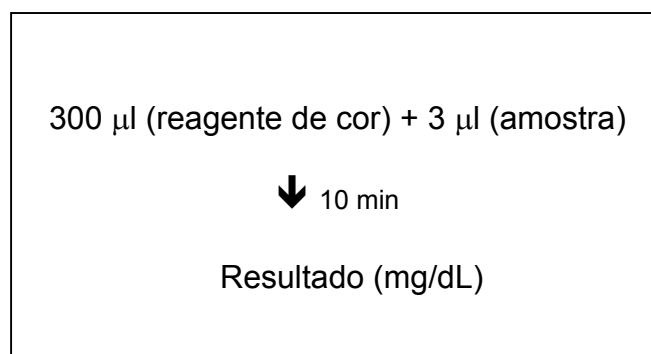
*Figura 3.2 – Esquema de reação para a dosagem de triglicerídios em aparelho Cobas Mira.*

#### 3.4.2 Dosagem de Colesterol total

A dosagem de colesterol total também baseia-se em um sistema enzimático com reação de ponto final, em amostras de soro e foi desenvolvido como preconizado pelo kit da Labtest-Diagnostica (2001). Os ésteres de colesterol são hidrolisados pela colesterol esterase a colesterol livre e ácidos graxos. O colesterol livre é oxidado pela colesterol oxidase a colest-4-enona e peróxido de hidrogênio. Na presença de peroxidase e peróxido de hidrogênio, o fenol e a 4 aminoantipirina são oxidados formando antipirilquinonimina que tem absorção máxima em 500 nm. A intensidade da cor vermelha formada na reação final é diretamente proporcional à concentração do colesterol na amostra.

O reagente de cor contém tampão 50 mmol, pH 7,0, fenol 24,0 mmol/L, colato de sódio 0,5 mmol/L, azida sódica 1,5 mmol/L, 4-aminoantipirina 0,5 mmol/L, colesterol esterase > 250 U/l, colesterol oxidase > 150 U/l e peroxidase > 1000 U/L.

A dosagem do colesterol total, segundo o esquema da figura 3.3, foi realizada no aparelho Cobas Mira.



*Figura 3.3 – Esquema de reação para a dosagem de colesterol total em aparelho Cobas Mira.*

#### 3.4.3 Dosagem de HDL-colesterol

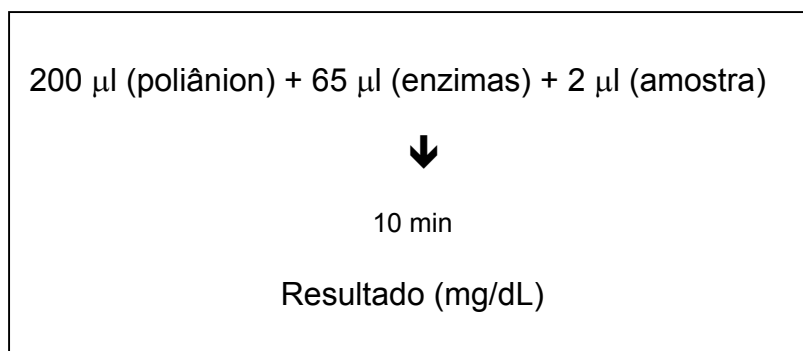
Este método foi desenvolvido de acordo com o preconizado pelo kit da Labtest-Dianostica (2001). Constitui-se um sistema homogêneo direto do HDL-colesterol no soro. Este sistema utiliza dois reagentes que possibilitam a dosagem seletiva do colesterol ligado às HDL. O primeiro reagente contém um poliânion que forma complexos estáveis com superfícies das LDL, VLDL e Quilomicra. Por outro lado, os complexos formados com as partículas da HDL



não permanecem estabilizados e se solubilizam por ação de um detergente, permitindo a reação com as enzimas presentes no segundo reagente. Como somente o colesterol HDL fica sujeito à ação das enzimas, a cor resultante da segunda reação é diretamente proporcional à concentração do colesterol HDL da amostra.

Os reagentes são formados por um poliânion e enzimas. O poliânion contém 3,4 mmol/L de tungstofosfato de sódio, 2 mmol de 4 aminoantipirina e 50 mmol/L de íons magnésio. As enzimas contém 10 g/L de polioxietileno lauril éster, > 812 U/L de colesterol esterase, > 1000 U/l colesterol oxidase, > 4000 U/L de peroxidase e 1 mmol/L de N,N-bis (4-sulfobutil)- m toluidina.

As determinações, segundo o esquema da figura 3.4, foram realizadas no aparelho Cobas Mira.



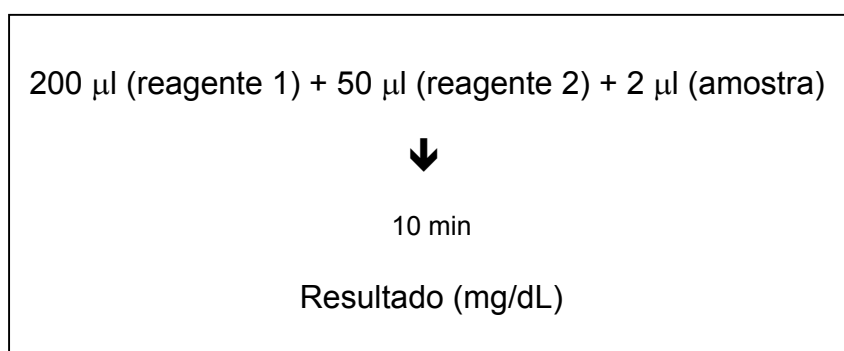
*Figura 3.4 – Esquema de reação para a dosagem de HDL-colesterol em aparelho Cobas Mira.*

#### 3.4.4 Dosagem de LDL-colesterol

A determinação do LDL-colesterol baseia-se em um sistema de inibição seletiva direta no soro e foi desenvolvido como preconizado pelo kit da Diasys-Diagnostic Systems International (2001). É um método homogêneo sem centrifugação para a medição direta do LDL-colesterol. No primeiro passo, a LDL é seletivamente protegida (reagente 1), enquanto as lipoproteínas não LDL são enzimaticamente processadas. Num segundo passo (reagente 2), a LDL é liberada e seletivamente determinado por uma reação enzimática com produção de cor.

O reagente 1 contém 22 mmol/L de tampão, pH 6,8, > 2 kU/L de colesterol esterase, > 2 kU/L de colesterol oxidase, 0,43 mmol/L de N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina e > 400 kU/L de catalase. O reagente 2 é composto por 22 mmol/L de solução tampão, pH 7,0, 0,68 mmol de 4-aminoantipirina, > 3 kU/L de peroxidase e azida sódica.

O aparelho Cobas Mira foi utilizado para realizar as determinações, segundo o esquema da figura 3.5.



*Figura 3.5 – Esquema de reação para a dosagem de LDL-colesterol em aparelho Cobas Mira.*

### 3.4.5 Apolipoproteína A-I

A determinação da apolipoproteína A-I baseia-se em um sistema imunoturbidimétrico, em amostras de sangue e foi desenvolvido pelo Kit da SpinReact S.A. 2001. A amostra diluída com uma solução tampão (reagente 1) com excesso de anticorpo (reagente 2), forma um imunocomplexo insolúvel produzindo uma turbidez, cuja intensidade é proporcional a quantidade de antígeno (apolipoproteína A-I) presente na amostra.

O reagente de trabalho é composto pelos reagentes 1 e 2. O reagente 1 contém uma solução tampão TRIS / PEG, 100 mmol/L, em pH 7,5. O reagente 2 é composto por antisoro de apolipoproteína A-I.

As determinações foram realizadas, segundo o esquema da figura 3.6 no aparelho Cobas Mira.

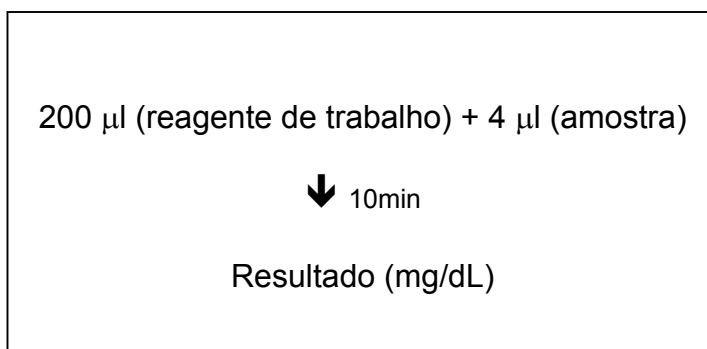


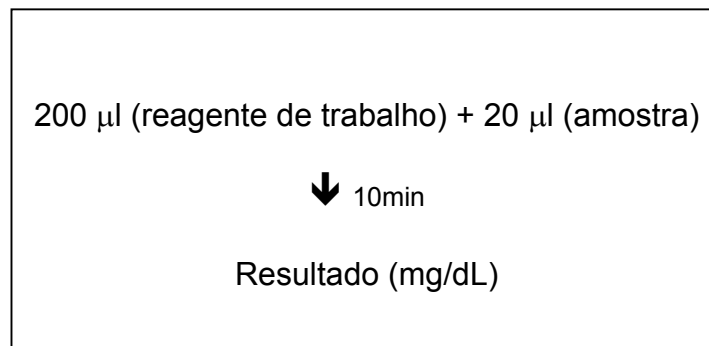
Figura 3.6 – Esquema de reação para a dosagem da *apolipoproteína A-I* em aparelho Cobas Mira.

### 3.4.6 Apolipoproteína B

A apolipoproteína B foi determinada por um sistema imunoturbidimétrico, em amostras de sangue, de acordo com o Kit da SpinReact S.A. 2001. A amostra diluída com uma solução tampão (reagente 1) com excesso de anticorpo (reagente 2), forma um imunocomplexo insolúvel produzindo uma turbidez, cuja intensidade é proporcional á quantidade de antígeno (apolipoproteína B) presente na amostra.

O reagente de trabalho é composto pelos regentes 1 e 2. O reagente 1 contém uma solução tampão TRIS / PEG, 100 mmol/L, em pH 7,5. O reagente 2 é composto por antisoro de apolipoproteína B.

As determinações foram realizadas no aparelho Cobas Mira, segundo o esquema da figura 3.7.



*Figura 3.7 – Esquema de reação para a dosagem da apolipoproteína B1 em aparelho Cobas Mira.*

#### 3.4.7 Eletroforese de lipoproteínas

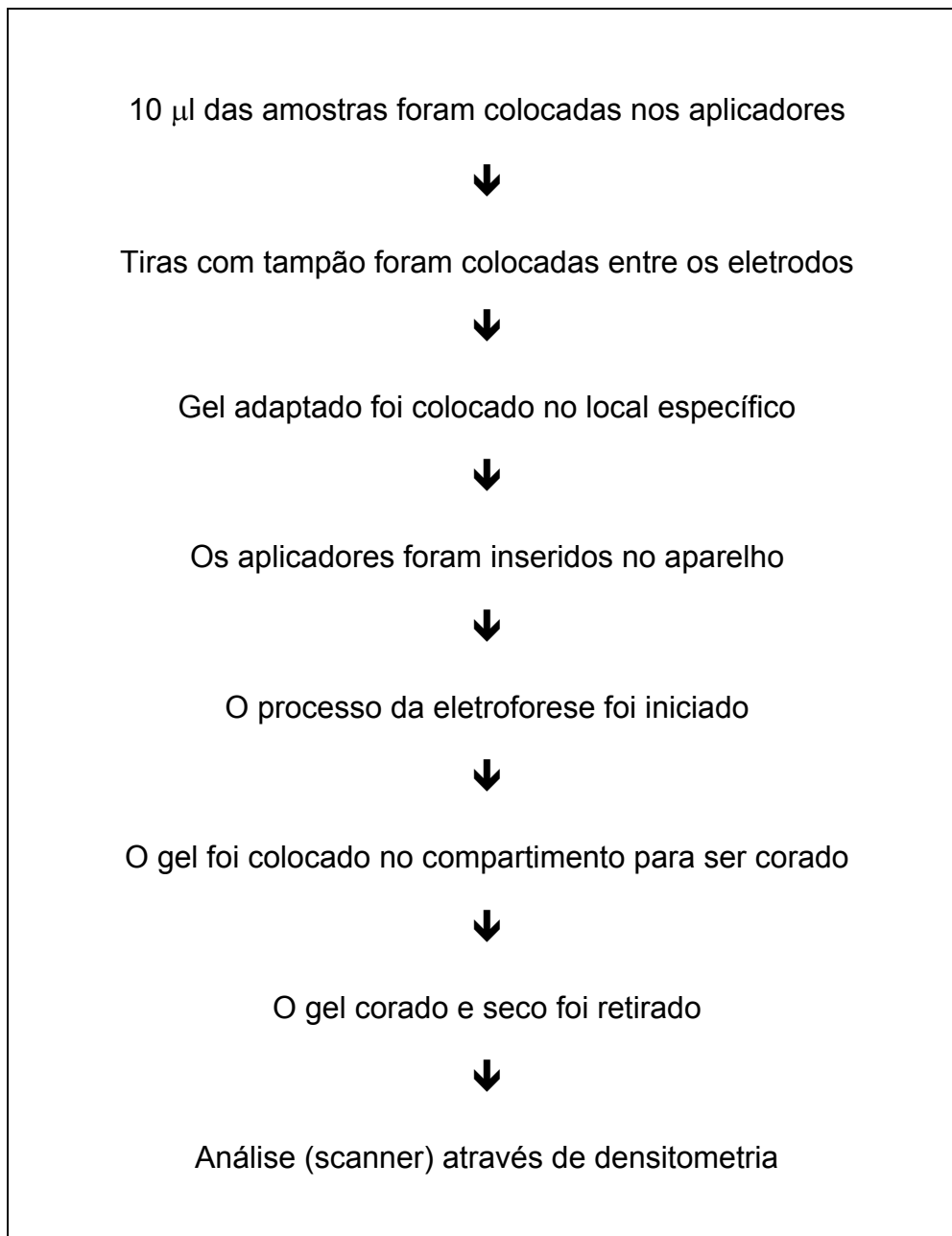
As análises foram executadas por eletroforese em gel de agarose com tampão alcalino (pH 8.8). As lipoproteínas separadas são coradas pelo Sudan Black, um corante específico para lipídios. O excesso de corante é removido por uma solução alcóolica. O resultado dos eletroforegramas foi avaliado por densitometria para obtenção quantitativa das zonas individuais (Sebia, 2001).

Abaixo estão relacionados os reagentes e materiais e suas funções, para ser realizada a eletroforese.

- Gel de agarose: 0,8 g/dL de agarose, tampão alcalino com pH 8,8; suporte médio para eletroforese de lipoproteína.
- Tiras contendo tampão: tampão alcalino com pH 8,5, azida sódica; funciona como reservatório e garante o contato entre os eletrodos e o gel.
- Coloração Sudan Black: 120 mL de etanol puro (96%), 2 ml do corante Sudan Black, 90 ml de água deionizada, 10 mL de solução tampão-corante; cora as bandas separadas da eletroforese.
- Tampão-corante: Tampão com pH 4,8, ácido acético; componente da coloração do Sudan Black.
- Aplicador: Aplica a amostra no gel.
- Filtro de papel: Absorve o excesso de umidade do gel antes da aplicação da amostra.
- Solução descorante: 220 mL de solução contendo 45% de etanol e 55% de água destilada; descora e remove o excesso de corante no gel.
- Solução de lavagem (nº 1) Hydrasis: Tampão alcalino com pH 8,8, e azida sódica; serve para limpar o compartimento de coloração.

- Solução de lavagem (nº 2): 1 L de solução contendo 75% de etanol puro e 25% de água deionizada; lavar o compartimento de coloração após corado o gel.
- Fluidil: diluir amostras turvas e viscosas.

As eletroforeses de lipoproteínas foram realizadas no aparelho Hydrasis System, segundo o esquema da figura 3.8.



*Figura 3.8 – Esquema da realização da eletroforese de lipoproteína em aparelho Hydrasis System.*

### 3.5 Análise estatística

Para detectarmos uma diferença significativa entre os grupos (descendentes japoneses e sem ascendência oriental), o nível de significância para os testes foi  $p < 0,05$  em teste bicaudal. O teste estatístico utilizado foi o de análise de variância com fator único (ANOVA) seguido pelo teste de Turkey quando houvessem diferenças significativas.



## 4 RESULTADOS

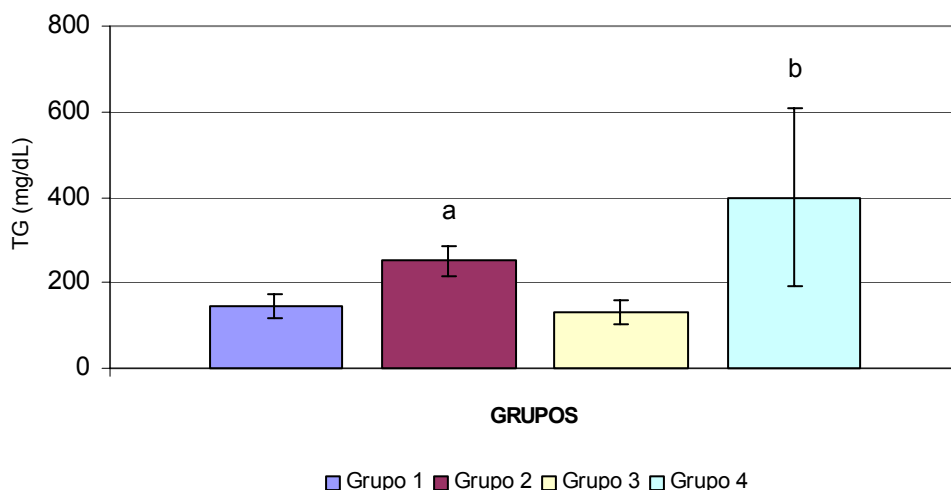
### 4.1 Níveis de triglicerídios

Nossa amostra foi composta por 4 grupos, como descrito em Material e Métodos. O nível de triglicerídios considerado como normal foi igual ou inferior a 200 mg/dL.

De acordo com os níveis de triglicerídios, 88 dos indivíduos sem ascendência oriental (91,6%) constituíram o grupo 1, ou seja, apresentaram níveis de triglicerídios abaixo ou igual a 200 mg/dL. Os 8 indivíduos restantes (8,4%) formaram o grupo 2. Dos 96 indivíduos de ascendência oriental, 78 (81,3%) apresentaram níveis de triglicerídios menores ou iguais a 200 mg/dL (grupo 3) e 18 (18,7%) níveis acima deste valor (Figura 4.1).

Comparando-se a porcentagem de indivíduos sem ascendência oriental com níveis maiores que 200 mg/dL (8,4%) com a porcentagem de indivíduos de ascendência japonesa pertencentes ao grupo 4 (18,7%), observamos que esta última é significativamente maior que a primeira, ou seja, há mais indivíduos com ascendência oriental e níveis de triglicerídios aumentados do que indivíduos sem esta ascendência ( $\chi^2=4,44$ ;  $p < 0,05$ ).

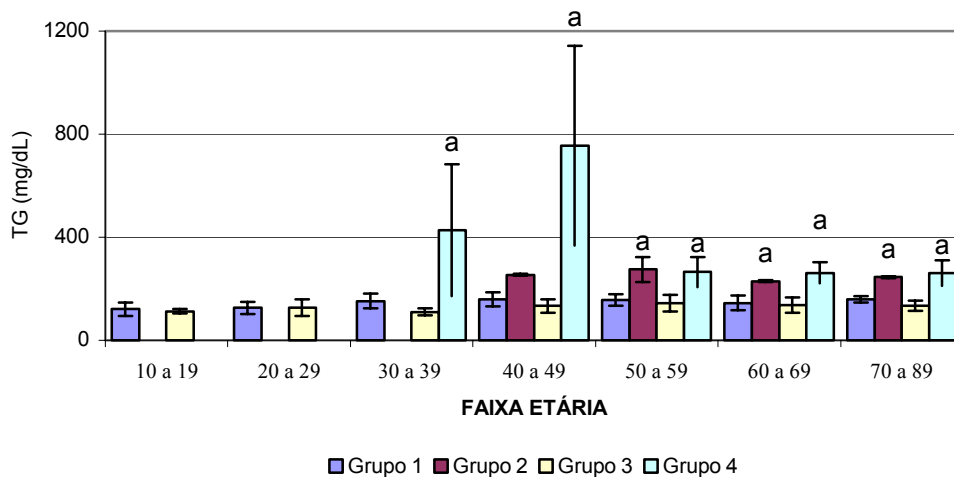
Analisando-se estatisticamente os dados, observamos que os níveis de triglicerídios do grupo 4, foram estatisticamente maiores que aqueles dos demais grupos, já o grupo 2, apresentou níveis estatisticamente superiores aqueles dos grupos 1 e 3 [ $F(3,191)=42,78$ ;  $p < 0,001$ ].



*Figura 4.1 – Níveis de triglicerídios (mg/dL) em indivíduos com ou sem ascendência oriental. Grupos descritos em Material e Métodos. a = estatisticamente maior que o grupo 1 e 3; b = estatisticamente maior que os grupos 1, 2 e 3, pelo teste ANOVA,  $p < 0,001$ .*

Quando separamos nossa amostra por faixa etária (Figura 4.2), observamos que no grupo 2 estavam somente indivíduos com 40 anos ou mais e no grupo 4, indivíduos com 30 anos ou mais. Nos grupos 1 e 3, encontramos indivíduos de todas as faixas etárias.

A partir da faixa etária de 30 a 39 anos, os valores do grupo 4 são maiores que aqueles observados nos grupos 1 e 3. A partir de 40 a 49 anos, os valores do grupo 2 também mostraram-se maiores que os dos grupos 1 e 3. Não houve diferença estatística entre os grupos 2 e 4 em todas as faixas etárias analisadas. O valor de F quando  $p < 0,05$  para cada faixa etária encontra-se no anexo 1.



*Figura 4.2 - Níveis de triglicerídios, levando-se em consideração as faixas etárias de cada grupo. Grupos descritos em Material e Métodos. a = estatisticamente maior que o grupo 1 e 3, pelo teste ANOVA,  $p < 0,05$ .*

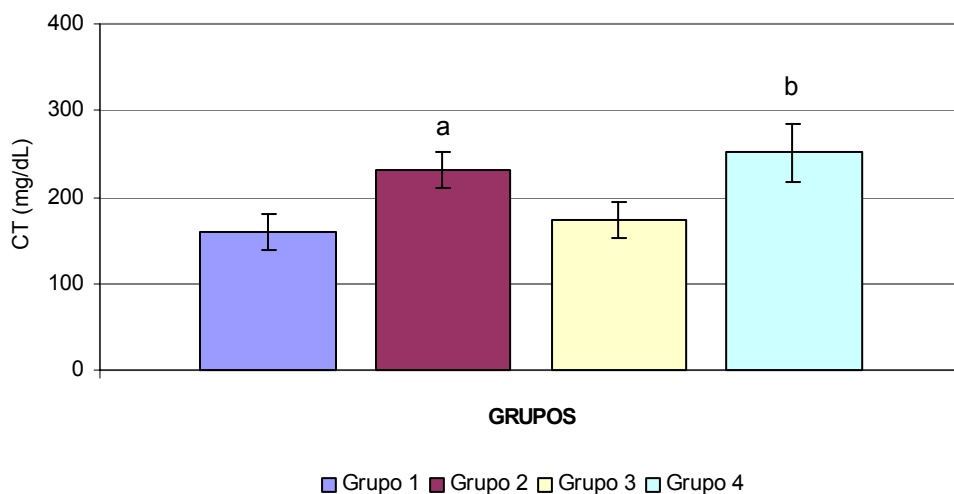
#### 4.2 Níveis de Colesterol

Nossa amostra foi composta por 4 grupos, como descrito em Material e Métodos. O nível de colesterol total considerado como normal foi igual ou inferior a 200 mg/dL.

De acordo com os níveis de colesterol total, 60 dos indivíduos sem ascendência oriental (62,5%) constituíram o grupo 1, ou seja, apresentaram níveis de colesterol total abaixo ou igual a 200 mg/dL. Os 36 indivíduos restantes (37,5%) formaram o grupo 2. Dos 96 indivíduos descendentes japoneses, 29 (30,5%) apresentaram níveis de colesterol total menores ou iguais a 200 mg/dL (grupo 3) e 67 indivíduos (69,7%) níveis acima deste valor.

Comparando-se a porcentagem de indivíduos sem ascendência oriental (Figura 4.3) com níveis de colesterol total maiores que 200 mg/dL (37,5%) com a porcentagem de indivíduos descendentes de japoneses pertencentes ao grupo 4 (69,7%), observamos que esta última é significativamente maior que a primeira, ou seja, há mais indivíduos descendentes de japoneses com níveis de colesterol total aumentados do que indivíduos sem esta ascendência ( $\chi^2=20,13$ ;  $p < 0,01$ ).

Analisando-se estatisticamente os dados, observamos que os níveis de colesterol total do grupo 4, foram estatisticamente maiores que aqueles dos demais grupos, já o grupo 2, apresentou níveis estatisticamente superiores aqueles dos grupos 1 e 3 [ $F(3,191)=146,66$ ;  $p < 0,001$ ].



*Figura 4.3 – Níveis de colesterol total (mg/dL) em indivíduos com ou sem ascendência oriental. Grupos descritos em Material e Métodos. a = estatisticamente maior que o grupo 1 e 3; b = estatisticamente maior que os grupos 1, 2 e 3, pelo teste ANOVA,  $p < 0,001$ .*

Quando separamos nossa amostra por faixa etária, observamos no grupo 2 (Figura 4.4) que os níveis de colesterol total acima de 200 mg/dL estavam presentes somente nos indivíduos com 30 anos ou mais e no grupo 4, haviam indivíduos de todas as faixas etárias. Nos grupos 1 e 3 encontramos indivíduos de todas as faixas etárias.

A partir da faixa etária de 10 a 19 anos, os valores do grupo 4 são maiores que o grupo 1,2 e 3. A partir de 30 a 39 anos os valores do grupo 2 mostraram-se maiores que os dos grupos 1 e 3. Não houve diferença estatística entre os grupos 1 e 3 em todas as faixas etárias. O valor de F quando  $p < 0,05$  para cada faixa etária encontra-se no anexo 2.

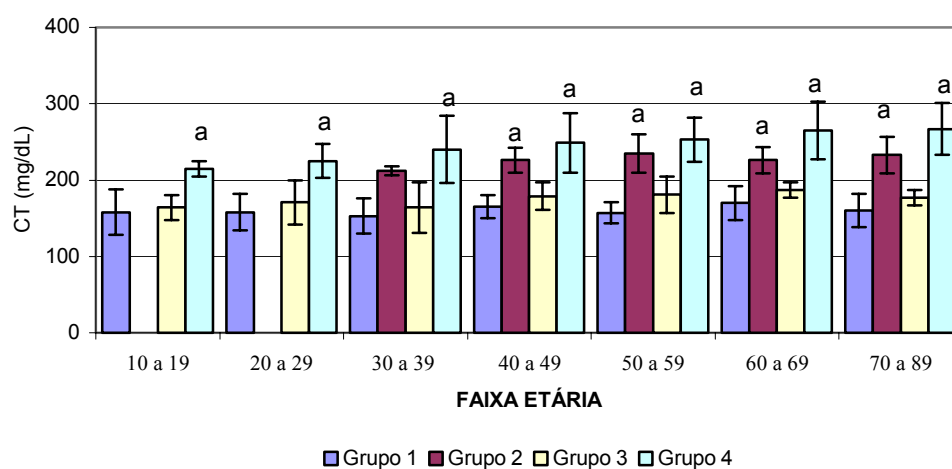


Figura 4.4 – Níveis de colesterol total (mg/dL), levando-se em consideração as faixas etárias de cada grupo. Grupos descritos em Material e Métodos. a = estatisticamente maior que o grupo 1 e 3, pelo teste ANOVA,  $p < 0,05$ .

### 4.3 Níveis de HDL-colesterol

O nível de HDL-colesterol considerado como normal foi igual ou superior a 35 mg/dL.

De acordo com os níveis plasmáticos de HDL-colesterol, 87 dos indivíduos sem ascendência oriental (90,6%) constituíram o grupo 1, ou seja, apresentaram níveis de HDL-colesterol acima ou igual a 35 mg/dL. Os 9 indivíduos restantes (9,4%) formaram o grupo 2 (< 35 mg/dL). Dos 96 indivíduos descendentes de japoneses, 88 (91,6%) apresentaram níveis da HDL-colesterol maiores ou iguais a 35 mg/dL (grupo 3) e 8 (8,4%) níveis abaixo deste valor (Figura 4.5).

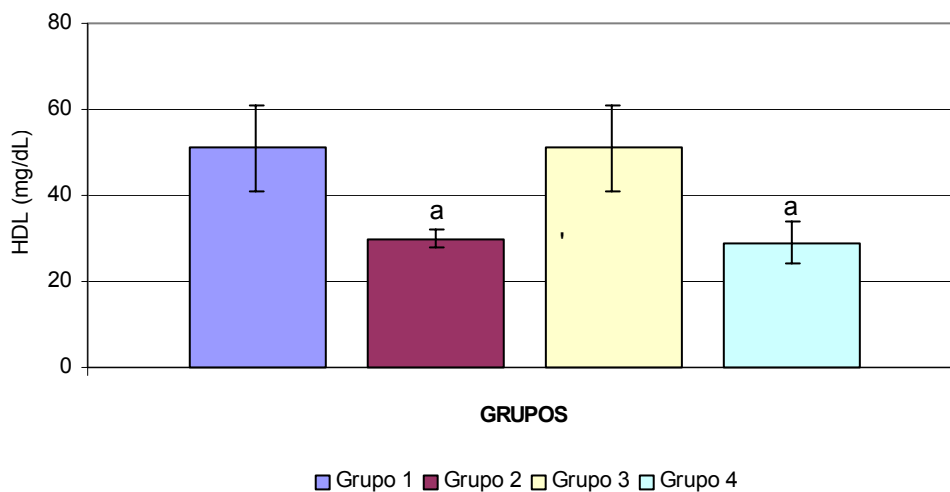


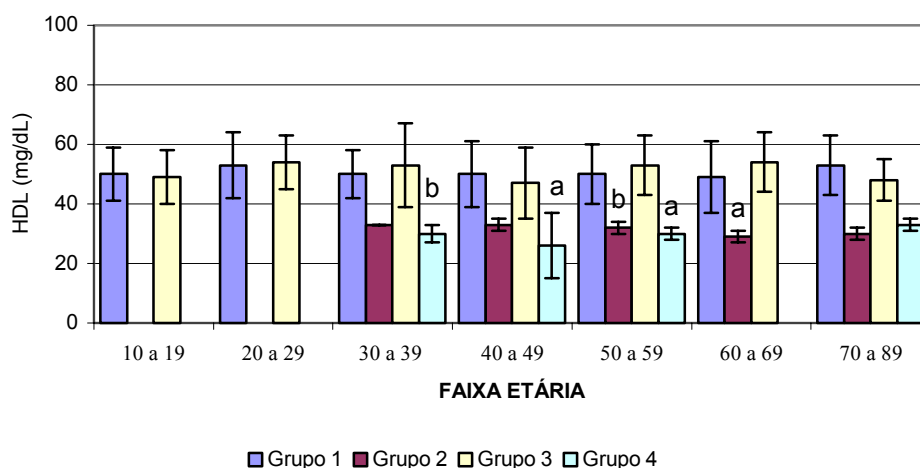
Figura 4.5 – Níveis da HDL-colesterol (mg/dL) em indivíduos com ou sem ascendência oriental. Grupos descritos em Material e Métodos. a = estatisticamente menor que o grupo 1 e 3, pelo teste ANOVA  $p < 0,001$ .

Comparando a porcentagem de indivíduos sem ascendência oriental com níveis de HDL-colesterol menor que 35 mg/dl (9,4%) com a porcentagem de indivíduos de ascendência japonesa pertencentes ao grupo 4 (8,4%), observamos que os dois grupos comportaram-se da mesma maneira, ou seja, há um mesmo número de indivíduos sem ascendência oriental e níveis da HDL-colesterol diminuídos que indivíduos com esta ascendência .

Analisando-se estatisticamente os dados, observamos que os níveis da HDL-colesterol dos grupos 2 e 4, foram estatisticamente menores que aqueles dos grupos 1 e 3 [F(3,191)=22,36; p <0,001].

Quando separamos nossa amostra por faixa etária, observamos que no grupo 2 e 4 (Figura 4.6), os níveis da HDL-colesterol abaixo de 35 mg/dL estavam presentes somente nos indivíduos acima de 30 anos. Não houve indivíduos com ascendência oriental com menos de 35 mg/dL de HDL-colesterol na faixa de 60 a 69 anos.

Na faixa etária de 30 a 39 anos observamos diferença estatística entre os grupos 3 e 4. Na faixa de 40 a 49 anos, observamos que os níveis da HDL-colesterol nos indivíduos com ascendência oriental (grupo 4) são menores e estatisticamente diferentes que os grupos 1 e 3. Porém, entre a faixa etária de 50 a 59 anos além da diferença acima, observamos que o grupo 2 também diferiu do grupo 3. Contudo na faixa de 60 a 69 anos os níveis plasmáticos de HDL-colesterol dos indivíduos sem ascendência oriental (grupo 2) foram menores e diferentes quando comparados aos dos grupos 1 e 3. O valor de F quando  $p < 0,05$  para cada faixa etária encontra-se no anexo 1.



*Figura 4.6 – Níveis da HDL-colesterol (mg/dL), levando-se em consideração as faixas etárias de cada grupo. Grupos descritos em Material e Métodos. a = estatisticamente menor que o grupo 1 e 3; b = estatisticamente menor que o grupo 3, teste de ANOVA,  $p < 0,05$ .*

#### 4.4 Níveis de LDL-colesterol

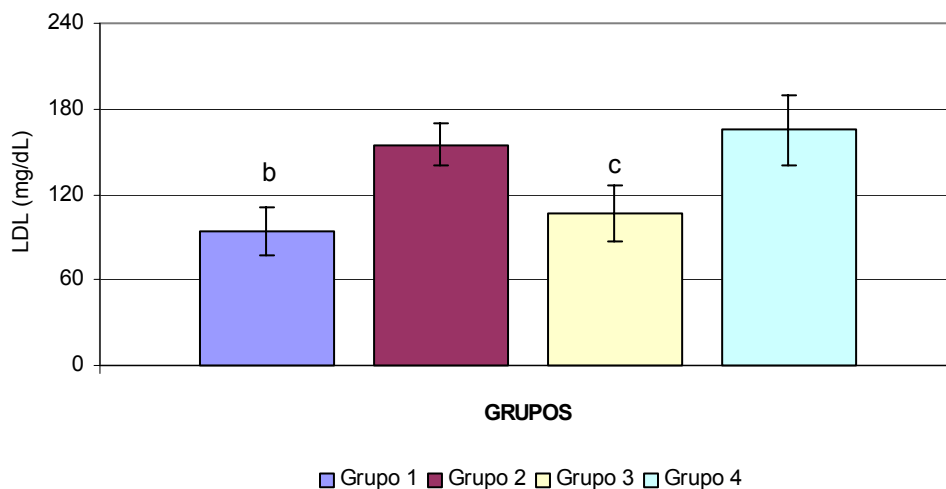
O nível da LDL-colesterol considerado como normal foi igual ou inferior a 130 mg/dL.

De acordo com os níveis da LDL-colesterol, 66 dos indivíduos sem ascendência oriental (68,7%) constituíram o grupo 1, ou seja, apresentaram níveis de LDL-colesterol abaixo ou igual a 130 mg/dL. Os 30 indivíduos restantes (31,3%) formaram o grupo 2. Dos 96 indivíduos descendentes de japoneses, 37 (38,7%) apresentaram níveis da LDL-colesterol menores ou iguais a 130 mg/dL (grupo 3) e 59 indivíduos (61,3%) níveis acima deste valor (Figura 4.7).



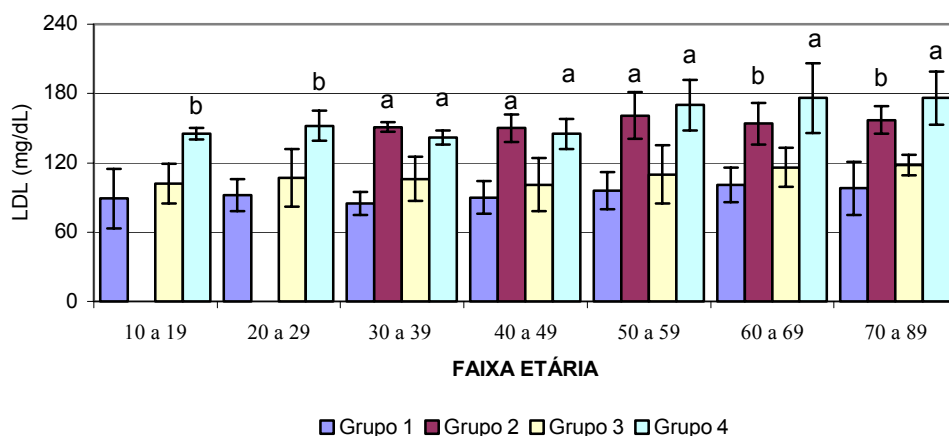
Comparando-se a porcentagem de indivíduos sem ascendência oriental (Figura 4.7) com níveis da LDL-colesterol maiores que 130 mg/dL (31,3%) com a porcentagem de indivíduos descendentes de japoneses pertencentes ao grupo 4 (61,3%), observamos que esta última é maior que a primeira, ou seja, há mais indivíduos descendentes de japoneses e níveis de LDL-colesterol aumentados do que indivíduos sem esta ascendência ( $\chi^2=17,62$ ;  $p < 0,01$ ).

Analisando-se estatisticamente os dados, observamos que os níveis de LDL-colesterol do grupo 4, foram estatisticamente maiores que aqueles dos demais grupos, já o grupo 2, apresentou níveis estatisticamente superiores aqueles dos grupos 1 e 3 [ $F(3,191)=153,51$ ;  $p < 0,001$ ].



*Figura 4.7 – Níveis da LDL-colesterol (mg/dL) em indivíduos com ou sem ascendência oriental. Grupos descritos em Material e Métodos. b = estatisticamente menor que os grupos 2 e 4; c = estatisticamente menor que os grupos 2 e 4, pelo teste ANOVA,  $p < 0,001$ .*

Quando separamos nossa amostra por faixa etária, observamos que no grupo 2 (Figura 4.8), níveis de LDL-colesterol acima de 130 mg/dL foram encontrados somente nos indivíduos com 30 anos ou mais. Nos grupos 1, 3 e 4 encontramos indivíduos de todas as faixas etárias.



*Figura 4.8 – Níveis da LDL-colesterol (mg/dL), levando-se em consideração as faixas etárias de cada grupo. Grupos descritos em Material em Métodos. a = estatisticamente maior que o grupo 1 e 3; b = estatisticamente maior que o grupo 1, pelo teste ANOVA,  $p < 0,05$ .*

Os níveis de LDL-colesterol nas faixas etárias de 10 a 19 e 20 a 29 anos do grupo 4 foram estatisticamente maiores que aqueles do grupo 1. A partir dos 30 a 39 anos até os 50 a 59 anos os grupos 2 e 4 possuem níveis similares de LDL-colesterol, mas estes são significativamente maiores que aqueles dos grupos 1 e 3. Nas duas últimas faixas etárias, indivíduos descendentes de japoneses (grupo 4) continuam apresentando níveis similares aos do grupo 2, sem ascendência oriental e maiores que os do grupo 1 e 3. O grupo 2 diferiu

significativamente somente do grupo 1. O valor de F quando  $p < 0,05$  para cada faixa etária encontra-se no anexo 2.

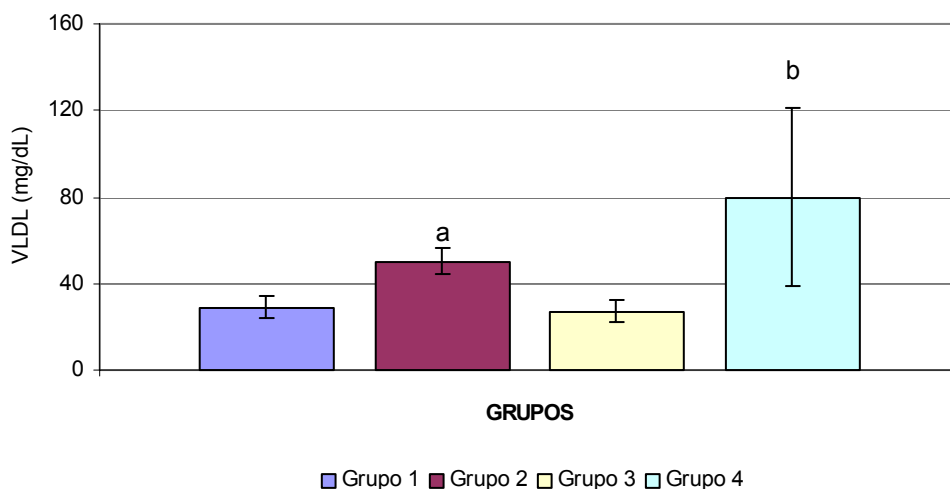
#### 4.5 Níveis de VLDL-colesterol

O nível da VLDL-colesterol considerado como normal foi igual ou abaixo de 40 mg/dL.

De acordo com os níveis da VLDL-colesterol, 88 dos indivíduos sem ascendência oriental (91,6%) constituíram o grupo 1, ou seja, apresentaram níveis da VLDL-colesterol abaixo ou igual a 40 mg/dL. Os 8 indivíduos restantes (8,4%) formaram o grupo 2. Dos 96 indivíduos de ascendência oriental, 78 (81,3%) apresentaram níveis da VLDL-colesterol menores ou iguais a 40 mg/dL (grupo 3) e 18 indivíduos (18,7%) tiveram níveis acima deste valor (Figura 4.9).

Comparando-se a porcentagem de indivíduos sem ascendência oriental com níveis maiores que 40 mg/dL de VLDL-colesterol (8,4%) com a porcentagem de indivíduos de ascendência japonesa pertencentes ao grupo 4 (18,7%), observamos que esta última é significativamente maior que a primeira, ou seja, há mais indivíduos com ascendência oriental e níveis da VLDL-colesterol aumentados do que indivíduos sem esta ascendência ( $\chi^2=4,44$ ;  $p < 0,05$ ).

Analisando-se estatisticamente os dados, observamos que os níveis da VLDL-colesterol do grupo 4, foram estatisticamente maiores que aqueles dos demais grupos, já o grupo 2, apresentou níveis estatisticamente superiores aqueles dos grupos 1 e 3 [ $F(3,191)=42,79$ ;  $p < 0,001$ ].



*Figura 4.9 – Níveis da VLDL-colesterol (mg/dL) em indivíduos com ou sem ascendência oriental. Grupos descritos em Material e Métodos. a = estatisticamente maior que o grupo 1 e 3; b = estatisticamente maior que os grupos 1, 2 e 3, pelo teste ANOVA,  $p < 0,001$ .*

Os indivíduos não foram separados em faixas etárias para os níveis de VLDL-colesterol, pois o modo pela qual foi obtido o valor desta foi através do cálculo, triglicerídios/5. Quando comparado os grupos de indivíduos, a divisão por faixa etária para os níveis de VLDL-colesterol tem o mesmo perfil que os níveis de triglicerídios separados por idade (Figura 4.2).

#### 4.6 Apolipoproteína A-1 e Apolipoproteína B

Pelo que foi exposto acima, podemos observar que no grupo 4, aquele cujos indivíduos possuem ascendência japonesa, todos os parâmetros analisados estavam fora da normalidade fazendo com que este grupo diferisse

significativamente dos demais grupos. Isto nos levou a avaliá-los quanto à medida da apolipoproteína A-I e B comparando os resultados com aqueles dos indivíduos com a mesma ascendência mas que tinham todos os parâmetros dentro da normalidade (grupo 3). Não foi possível estendermos a avaliação para o grupo 1 e 2 devido ao custo das técnicas empregadas.

Na tabela 4.1 estão relacionados os valores dos níveis de apolipoproteína A-I e apolipoproteína B nos indivíduos descendentes de japoneses. Esta tabela mostra os valores dos ensaios acima descritos, levando em consideração os valores limítrofes de triglicerídios e colesterol total e de HDL-colesterol e LDL-colesterol, ou seja, os resultados acima e abaixo dos valores normais, respectivamente (Tabela 4.1).

*Tabela 4.1 - Níveis de apolipoproteína A-I e apolipoproteína B, baseado nos valores das dosagens de TG, CT, HDL, LDL.*

	Ensaios (mg/dL)							
	TG		TC		LDL		HDL	
	≤ 200	> 200	≤ 200	> 200	≤ 130	> 130	≥ 35	< 35
Apo A-I	138±19	123±18*	137±18	135±21	137±19	134±20	138±19	111±10*
Apo B	89±22	100±23	71±12	101±21*	71±11	103±19*	92±23	81±17

*Valores representam a média ± DP. \* diferença significativa pelo teste “ t ” de Student (p < 0,05).*

Indivíduos do grupo 4 que apresentaram valores de triglicerídios acima de 200 mg/dL e valores da HDL-colesterol abaixo de 35 mg/dL, foram os que mostraram valores estatisticamente menores de apolipoproteína A-I quando comparados com os indivíduos (grupo 3) com os mesmos parâmetros dentro do limite da normalidade (t= 3,36, p<0,001; t= 4,07, p<0,001, respectivamente).

Os indivíduos que obtiveram dosagem de colesterol total acima de 200 mg/dL e níveis de LDL-colesterol maior que 130 mg/dL (grupo 4), foram aqueles que obtiveram níveis de apolipoproteína B estatisticamente maior, quando comparados com indivíduos do grupo 3 (t= 7,23, p <0,001; t= 8,89, p<0,001, respectivamente).

Por outro lado, se separarmos os indivíduos em grupos 3 e 4 de acordo com os níveis de triglicerídios (tabela 4.2), podemos observar, que aqueles do grupo 4, além de possuírem apolipoproteína A-I diferente daqueles do grupo 3, possuem também colesterol total (t= 3,56, p < 0,001) e VLDL-colesterol (t= 7,77, p < 0,001) significativamente maiores e HDL-colesterol (t= 4,34, p < 0,001) significativamente menor que aqueles deste grupo.

*Tabela 4.2 – Níveis de lipoproteínas e apolipoproteínas nos indivíduos japoneses, baseado nos valores de triglicerídios.*

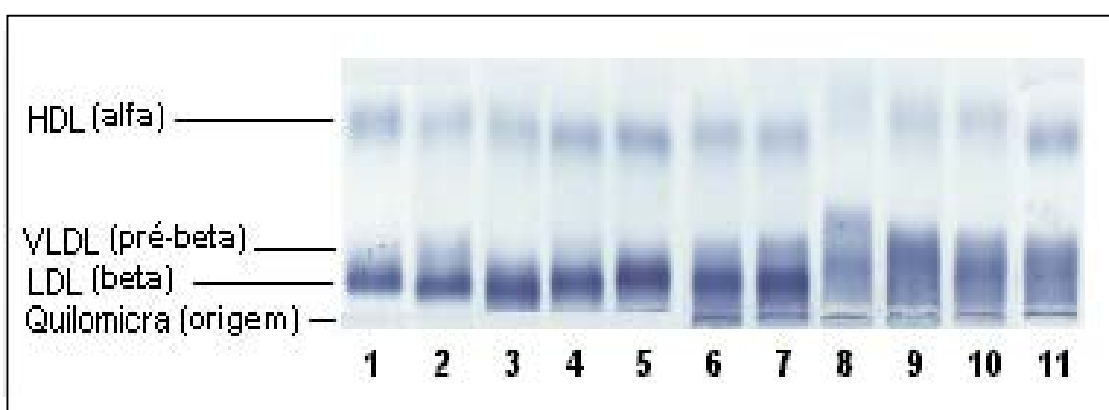
	<i>Triglicerídios (mg/dL)</i>	
	<i>Grupo 3 (n=78)</i>	<i>Grupo 4 (n=18)</i>
<i>Colesterol total</i>	<i>215 ± 46</i>	<i>260 ± 42 *</i>
<i>HDL-colesterol</i>	<i>52 ± 10</i>	<i>40 ± 10 *</i>
<i>LDL-colesterol</i>	<i>139 ± 37</i>	<i>155 ± 35</i>
<i>VLDL-colesterol</i>	<i>26 ± 5</i>	<i>80 ± 61 *</i>
<i>Triglicerídios</i>	<i>130 ± 28</i>	<i>400 ± 306 *</i>
<i>Apolipoproteína A-I</i>	<i>138 ± 19</i>	<i>123 ± 18 *</i>
<i>Apolipoproteína B</i>	<i>89 ± 22</i>	<i>100 ± 23</i>

*Média ± desvio padrão. \* diferente estatisticamente do grupo 3 pelo teste “ t “ de Student (p < 0.001).*

#### 4.7 Eletroforese de lipoproteínas

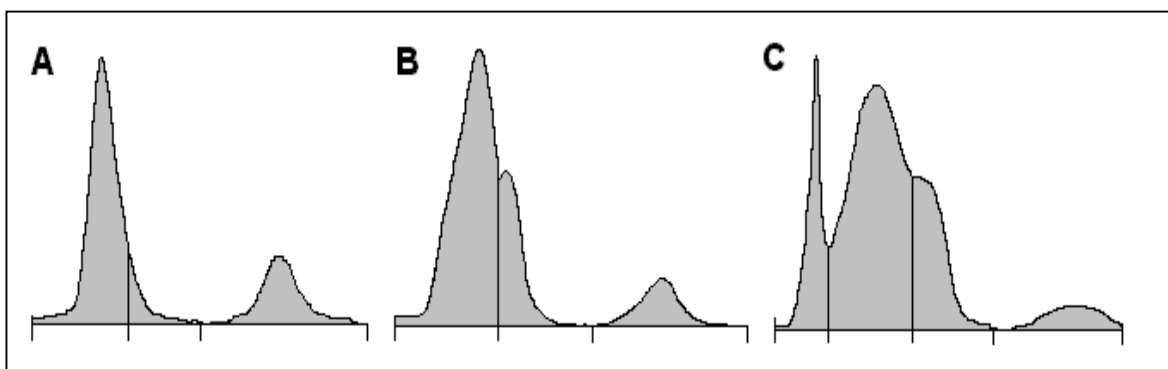
As eletroforeses de lipoproteínas foram realizadas em todos os indivíduos descendentes de japoneses (grupo 3 e 4), com o intuito de demonstrar alterações nas classes de lipoproteínas.

Observamos que houveram dois padrões eletroforéticos (Figura 4.10). Alguns indivíduos obtiveram alterações nas quilomicras e VLDL (6 indivíduos), referente as bandas da origem e pré-beta, e outros alterações somente na lipoproteína VLDL (pré-beta) (12 indivíduos). Na figura 4.10 são representados somente alguns indivíduos do total analisado.



*Figura 4.10 - Eletroforese de lipoproteína. 1: indivíduo descendente de japonês (grupo 3); 2: indivíduo sem ascendência oriental (grupo 1); 3-5: indivíduos descendentes de japoneses (grupo 4) com alteração na banda pré-beta; 6-11: indivíduos descendentes de japoneses (grupo 4) com alteração na banda relacionada a origem e pré-beta.*

Após realizada a eletroforese, as bandas foram quantificadas por densitometria (figura 4.11). A análise dos resultados permite-nos inferir que todos os indivíduos com aumento da banda da origem (quilomicra) e/ou pré-beta (VLDL) confirmaram este aumento na densitometria.



*Figura 4.11- Gráficos das eletroforeses de lipoproteínas, por densitometria (scanner) **A** – representa um padrão normal. **B** – representa um aumento na banda pré-beta, referente a lipoproteína VLDL. **C** – representa um padrão anormal, com aumento na banda de origem (Quilomicra) e na banda pré-beta (VLDL). Na figura 4.10, nº 1-2 referem-se ao gráfico A; nº 3-5 gráfico B e nº 6-11 ao gráfico C.*



## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Triglicerídios

Segundo *The International Committee for Evaluation of Hypertriglyceridemia (1991)*, a hipertrigliceridemia é definida por um aumento nos níveis plasmáticos de TG acima de 200mg/dL. Embora as recomendações americanas (*NCEP-ATP III, 2001*) e européias (*Wood et al., 1998*) sugiram um limite para os níveis de TG de 200 mg/dL, *Miller et al. (1998)* preconizam que níveis acima de 100 mg/dL já possam estar associados a doenças cardiovasculares (DCV). Em nosso estudo, escolhemos os níveis descritos pelo 2º Congresso Brasileiro sobre Dislipidemias (1996) da Sociedade Brasileira de Cardiologia, o qual é adotado pela maioria dos laboratórios bioquímicos-clínicos e pelos médicos para fins de diagnosticar, juntamente com os dados clínicos, as DCV.

Valores de TG acima de 200 mg/dL também são citados na literatura por vários autores como relacionados às DCV (*Criqui et al., 1993; Ginsberg et al., 1995; Jeppensen et al., 1998; Sakata et al., 1998*).

Observamos na amostra de descendentes de japoneses da região de Cascavel (PR) 18,7% dos indivíduos com aumento nos níveis de TG, enquanto na amostra de indivíduos sem ascendência japonesa da mesma região somente 8,4% dos indivíduos tiveram este lipídio aumentado.

*Frontini (2001)* relata que 1% de negros e 18% de brancos americanos obtiveram concentrações plasmáticas de TG acima de 200 mg/dL. Estes dados discordam de nosso trabalho, pois observamos uma porcentagem significativamente menor de indivíduos sem ascendência japonesa e níveis de TG elevados. Talvez este fato deva-se a diferenças no hábito alimentar na América do Norte e aquele apresentado pelos brasileiros. Quanto à idade de aparecimento dos níveis aumentados de TG na população americana, o autor acima revela que os mesmos ocorrem a partir dos 30 anos de vida, sendo, este fato, considerado por ele como um potencial fator de risco para DCV em adultos jovens.

Observamos que o aumento nos níveis de TG dos indivíduos não descendentes de japoneses começa a partir dos 40 – 49 anos de vida, o que difere dos autores americanos.

Nos indivíduos descendentes de japoneses, há um aumento dos níveis de TG a partir dos 30 – 39 anos de idade, ou seja, uma década mais cedo que nos indivíduos do outro grupo.

Não há na literatura trabalhos comparando níveis de TG da população japonesa com aqueles de indivíduos ocidentais residindo no Brasil. Em 1996, *Namekata et al.*, compararam os níveis de TG em japoneses americanos com aqueles de trabalhadores japoneses do Japão e observaram que estes últimos possuíam níveis menores de TG bem como de colesterol total e maiores de HDL-colesterol que os primeiros. Quando comparamos nossos resultados com os destes autores, observamos o mesmo fato, ou seja, nossa amostra de descendentes de japoneses também possui níveis de TG maiores que aqueles de japoneses que vivem no Japão. *Namekata et al. (1997)*, sugerem como

explicação para esta diferença, o fato dos japoneses que vivem no Japão serem mais ativos fisicamente devido a vários fatores como: acesso limitado a automóveis, uso frequente de transporte público e hábitos de andar nas áreas metropolitanas do Japão, assim como às modificações no hábito alimentar dos orientais quando de sua mudança para a América.

Obesidade e altos índices de massa corporal estão associados a altos níveis de TG segundo *Jeppensen et al. (1997)*, além da prevalência de hipertensão e baixa atividade física. Em nosso trabalho não foi possível inquirir quanto aos hábitos alimentares e atividade física dos indivíduos analisados, não sendo possível relacionar estes fatores ao aumento dos níveis de TG nas duas amostras analisadas.

A hipertrigliceridemia está associada com o aumento da LDL-colesterol, pelo enriquecimento desta LDL pelos TG vindos da VLDL (*Deckelbaum et al., 1982*). No grupo de indivíduos com ascendência japonesa onde os níveis de TG estavam acima do normal, foi observado também um aumento nos níveis de LDL-colesterol, o que está de acordo com a afirmação acima.

Além de comentar o mesmo que *Deckelbaum et al. (1982)*, *Jeppensen et al. (1998)*, acrescentam que o aumento dos níveis de TG está também associado a uma diminuição nos níveis de HDL-colesterol. Isto também foi observado em nosso trabalho. Os indivíduos com aumento no nível de TG também possuíam HDL-colesterol diminuída.

Além do exposto acima, como possíveis causas para o aumento no nível de TG em indivíduos de ascendência japonesa, não podemos excluir a Hiperlipidemia familiar, que associa níveis elevados de TG entre 200 e 500 mg/dL com níveis elevados de colesterol entre 200 e 300 mg/dL (*Cullen, 2000*).

Em nossa amostra (grupo 4) observamos valores médios de 400 mg/dL de TG e 260 mg/dL de colesterol, os quais podem sugerir este distúrbio.

O aumento nos níveis de TG encontrado em nosso trabalho poderia ter como prováveis causas: (1) dieta com alto conteúdo de glicídios e gordura; (2) hábitos físicos sedentários; (3) alteração na apolipoproteína CII, um cofator responsável pela ligação da Quilomicra e da VLDL à lipoproteína lipase. A apolipoproteína CII é rica em TG; (4) alteração na apolipoproteína CIII. Esta liga-se à lipoproteína lipase após a hidrólise dos TG liberando as lipoproteínas para a corrente circulatória e (5) atividade nula ou diminuída da lipoproteína lipase a ponto da mesma não hidrolisar todo o conteúdo das lipoproteínas.

## 5.2 Colesterol Total

No grupo de indivíduos sem ascendência oriental observamos uma incidência de 37,5% de indivíduos com níveis de colesterol total acima de 200 mg/dL. Já no grupo oriental foi observada uma incidência de 69,7% de indivíduos com alteração nos níveis de colesterol. Quando são comparados as porcentagens entre os indivíduos das duas etnias, constatamos que houve diferença estatística entre eles. Houve mais indivíduos descendentes de japoneses e níveis de colesterol total aumentados que os indivíduos sem esta ascendência.

A porcentagem de indivíduos descendentes de japoneses com níveis de colesterol total acima de 200 mg/dL aqui observada (67%) foi maior que aquela descrita em outros trabalhos. Segundo o *Honolulu Heart Program (1991-93)*,

42% dos japoneses americanos possuem níveis de colesterol total acima de 200 mg/dL; entre os homens mexicanos americanos 53% possuem valores acima do normal, e para os índios americanos este aumento é de 38%, segundo dados do *Strong Heart Study (1989-92)*.

Quando comparamos as faixas etárias entre todos os indivíduos, percebemos que a partir da faixa de 10-19 anos já houve indivíduos descendentes de japoneses com níveis de colesterol total acima de 200 mg/dL, e nos indivíduos sem esta ascendência só a partir dos 30 anos. Também notamos que os níveis de colesterol total nos indivíduos descendentes de japoneses aumentam progressivamente com o passar dos anos, não sendo este dado observado na população sem esta ascendência.

Segundo *Berenson et al. (1992)* as fases iniciais da aterosclerose entre crianças e adultos jovens variam na raça, sexo e idade estando associados aos níveis de lipídios plasmáticos. Este dado está de acordo com as diferenças aqui encontradas.

A dieta e hábitos alimentares podem influenciar os níveis de lipídios plasmáticos. *Robertson et al. (1977)* citado por *Criqui e Golomb (1998)* demonstraram em seu estudo, que os indivíduos japoneses que imigraram do Japão para o Hawai e Califórnia ingeriam maior quantidade de gordura, tendo assim, níveis mais altos de colesterol total, devido a mudanças de ambiente e hábitos de vida. Em nosso trabalho, não foi possível registrar os alimentos ingeridos pelos indivíduos dos dois grupos estudados, mas talvez, como no trabalho de *Robertson et al. (1977)*, o tipo de alimentação tenha sido o responsável pelas diferenças nos níveis de colesterol total entre estes dois grupos.

### 5.3 HDL-colesterol

Observamos uma porcentagem similar de indivíduos sem ascendência japonesa (9,4%) e indivíduos com esta ascendência (8,4%) com níveis de HDL-colesterol abaixo de 35 mg/dL.

O *National Cholesterol Education Program (1993)* define que valores de HDL menores que 35 mg/dL são o principal fator de risco para doenças coronarianas e valores maiores que 60 mg/dL protegem contra as mesmas. Outros trabalhos também afirmam que níveis aumentados de HDL-colesterol estão relacionados inversamente com doenças cardiovasculares (*Ross, 1993; Sich et al., 1998*). A HDL possui propriedades anti-aterogênicas importantes, incluindo efeitos antioxidantes e capacidade em inibir agregação das lipoproteínas aterogênicas (*Zhong et al., 1996*).

Observamos que os níveis de HDL-colesterol diminuídos aparecem naqueles indivíduos que possuem níveis de triglicerídios acima de 200 mg/dL. *Sniderman e Cianflone (1999)* descrevem que pacientes hipertrigliceridêmicos frequentemente apresentam valores diminuídos de HDL-colesterol e *Kazumi et al. (1997)* afirmam que níveis de triglicerídios são significativamente maiores em indivíduos com concentrações mais baixas de HDL-colesterol. Todas estas afirmações estão de acordo com nossos resultados.

Quando comparamos os níveis de HDL-colesterol dos dois grupos de indivíduos analisados com os níveis de colesterol total e LDL-colesterol dos mesmos, notamos uma relação inversa, ou seja, indivíduos com baixos níveis

de HDL-colesterol, possuem valores aumentados de colesterol total e LDL-colesterol. Estes achados estão associados a um alto fator de risco para doenças coronarianas.

Outra possível explicação para a associação dos níveis de triglicerídios e HDL-colesterol, deve-se ao fato de que altas concentrações plasmáticas de triglicerídios afetam os três primeiros passos do metabolismo reverso do colesterol (*Brites et al. 2000*). *Jeppensen et al. (1997)* já haviam demonstrados em seus estudos, que o transporte reverso do colesterol é anormal em pacientes hipertrigliceridêmicos com baixos níveis de HDL-colesterol, e consideraram este achado como fator de alto risco no desenvolvimento de doenças isquêmicas do coração.

Outros autores, *Lamarche et al. (1999)*, sugeriram que o triglicerídio enriquecido na HDL pode ter um impacto significativo no metabolismo das partículas de HDL, predispondo esta HDL a sair da circulação, explicando parte da relação inversa entre os níveis de triglicerídios e HDL.

Esta relação entre os níveis de triglicerídios e HDL também foi encontrada em nosso trabalho.

Quando são comparadas as faixas etárias dos indivíduos, notamos que em ambas as populações, o aparecimento de níveis de HDL-colesterol menores que 35 mg/dL, foi observado a partir dos 30 anos.

Além das explicações acima, não podemos deixar de salientar que a diminuição nos níveis de HDL-colesterol pode estar associada a outras possibilidades:

a-) as partículas pequenas da HDL, as quais são produtos da lipólise intravascular da HDL rica em triglicerídio, são mais rapidamente removidas;

b-) a HDL rica em triglicerídios podem ser intrinsecamente mais instável na corrente circulatória;

c-) o próprio processo de lipólise pode diminuir o número de partículas de HDL determinando a perda da apo A-I das partículas da mesma;

d-) uma disfunção na LPL pode contribuir para a diminuição nos níveis da HDL, reduzindo a disponibilidade dos constituintes da superfície das lipoproteínas ricas em triglicerídios, as quais são necessárias para a formação das partículas de HDL nascentes.

#### 5.4 LDL-colesterol

Observamos que 61,3% dos indivíduos descendentes de japoneses possuem níveis de LDL-colesterol acima de 130 mg/dL, e entre os indivíduos sem esta ascendência foi observado uma porcentagem de 31,3% com esta alteração. Esta diferença foi estatisticamente significativa, mostrando haver uma distinção entre as duas populações quanto a este parâmetro. A partir destes resultados podemos sugerir que estes indivíduos descendentes de japoneses possuem um risco maior em desenvolver doenças coronarianas.

Quando as faixas etárias são comparadas, observamos que a alteração nos níveis de LDL-colesterol na população japonesa se dá a partir dos 10-19 anos, com aumento progressivo com o passar dos anos. Isto ocorreu bem mais cedo que nos indivíduos do grupo controle (30-39 anos).



*Austin et al. (2000)*, em um trabalho realizado com indivíduos japoneses observaram um nível médio de 142 mg/dL de LDL-colesterol. Este valor é similar ao encontrado em nosso trabalho: 155 mg/dL.

A relação positiva entre a concentração do colesterol total e doença coronariana é o achado mais consistente nos estudos epidemiológicos. A LDL-colesterol corresponde a dois terços do colesterol total e se constitui na fração aterogênica primária do colesterol sérico.

Segundo *Cullen et al. (2000)*, os fatores para doenças cardiovasculares, relacionado aos lipídios seguem a seguinte ordem decrescente: LDL-colesterol, colesterol total, HDL-colesterol e triglicerídios.

## 5.5 VLDL-colesterol

O nível de VLDL-colesterol foi calculado pela fórmula triglicéridio/5. Este cálculo é internacionalmente utilizado devido a uma relação direta entre os dois compostos, pois os triglicerídios são transportados pelas quilomicras e VLDL-colesterol no nosso organismo.

Dos indivíduos descendentes de japoneses, 18,7% apresentaram níveis aumentados de VLDL-colesterol enquanto no outro grupo estudado esta percentagem foi de 8,4%.

Estes valores nos sugerem que pode haver alterações no metabolismo das lipoproteínas (Quilomicras e VLDL), pois os triglicerídios transportados pelas mesmas não estão sendo totalmente hidrolisados pela lipoproteína lipase, com isso há um acúmulo de triglicerídios na corrente circulatória.

*Cullen et al. (2000)* relatam que nem todos os níveis aumentados de VLDL são aterogênicos, deve-se levar em consideração as subfrações: a VLDL pequena (IDL) está relacionada com risco para DCV, e a VLDL larga não está associada a DCV.

Somente pelos níveis de VLDL não podemos saber qual de suas frações está relacionada com o aumento dos triglicerídios, isto pode ser observado através da eletroforese de lipoproteínas, que será discutido adiante.

## 5.6 Apolipoproteína A-I e Apolipoproteína B

As apolipoproteínas (A-I e B) foram estudadas somente naqueles indivíduos com ascendência japonesa que obtiveram níveis alterados de triglicerídios, colesterol total, HDL-colesterol e LDL-colesterol (grupo 3) ou acima do limite de normalidade (grupo 4). Estas dosagens foram realizadas somente nos indivíduos descendentes de japoneses devido ao alto custo de cada teste.

Indivíduos com alterações nos níveis de triglicerídios (grupo 4) apresentaram menores níveis de Apo A-I que aqueles com triglicerídios normais (grupo 3), sendo esta diferença estatisticamente diferente. Isto está de acordo com os achados de *Brites et al. (2000)* que demonstraram que pacientes hipertrigliceridêmicos, com baixos níveis de HDL, são acompanhados por valores diminuídos de apo A-I e apo A-II.

Como a apo A-I é a principal apolipoproteína da HDL (*Maciejko et al. 1983*) e sua concentração está inversamente relacionada com risco para DCV,

possivelmente os indivíduos do grupo 4 (níveis de HDL menores que 35 mg/dL) estão mais predispostos a esta patologia. Estes dados confirmam aqueles já levantados anteriormente.

A apo B é a maior apolipoproteína componente da lipoproteína LDL (*Noma et al. 1983*) e também está relacionada com aumento no risco de DCV. Estas estão interrelacionadas, ou seja, quando há um aumento da apo B proporcionalmente ocorrerá um aumento na LDL.

As médias para apo A-I e apo B encontradas em nosso trabalho foram de 131 mg/dL e 95 mg/dL, respectivamente. Estes resultados estão de acordo com os resultados de *Sakurabayashi et al. (2001)* que trabalharam com indivíduos japoneses que possuíam concentrações de colesterol total, triglicerídios e HDL dentro dos níveis normais. Para estes autores, as médias das concentrações plasmáticas para a apo A-I e apo B foram de 142 e 87 mg/dL, respectivamente.

Observamos também que indivíduos com níveis de colesterol total e LDL-colesterol alterados apresentaram concentrações de apo B maiores e estatisticamente diferentes daqueles que com níveis de colesterol total e LDL-colesterol normais. Os primeiros, possivelmente, estão sujeitos a um risco maior no desenvolvimento de DCV.

## 5.7 Eletroforese de lipoproteínas

Em todos os indivíduos descendentes de japoneses com triglicerídios acima de 200 mg/dL foram realizadas eletroforeses das lipoproteínas com o objetivo de verificarmos se havia alguma alteração nas mesmas.

Um aumento nos níveis de triglicerídios pode significar um acúmulo de duas lipoproteínas, quilomicra e VLDL ou também uma composição anormal das apolipoproteínas que compõem estas lipoproteínas (*Brites et al., 1998*).

Como, a eletroforese divide as lipoproteínas do soro de diferentes densidades, é possível, com esta técnica, observar alterações nas distribuições das mesmas.

Obtivemos dois tipos de resultados após a análise das eletroforeses do soro dos indivíduos descendentes de japoneses:

1- um padrão eletroforético alterado na banda pré-beta que corresponde a uma fração da VLDL. Estes resultados estão de acordo com aqueles encontrados por *Brites et al. (2000)*. Estes autores relatam que seus pacientes hipertrigliceridêmicos possuíam a banda pré-beta (VLDL) aumentada na eletroforese de lipoproteínas.

2- um padrão eletroforético alterado nas bandas da origem (quilomicra) e pré-beta (VLDL).

Nas eletroforeses de lipoproteínas de indivíduos normais não foi observada a presença de quilomicra. Este resultado já era esperado, pois esta lipoproteína quando em concentração normal, após um período de 12 h de jejum, não faz mais parte do conjunto de lipoproteínas circulantes no plasma.

Estes resultados nos levam a crer que indivíduos descendentes de japoneses possuem alteração no metabolismo de algumas lipoproteínas.

Outra vantagem observada pela eletroforese de lipoproteínas, foi a separação da quilomicra e da VLDL. Quando medimos a concentração de VLDL pela fórmula triglicerídios/5 não sabemos ao certo quanto de quilomicra estará incluída no resultado, já que os triglicerídios podem estar sendo transportados tanto por esta lipoproteína quanto pela VLDL. Pela eletroforese de lipoproteínas podemos diferenciar as quilomicras da VLDL. A partir dos nossos resultados observamos que uma parte (10,4%) de nossa amostra de descendentes de japoneses que possuem níveis elevados de triglicerídios possui um aumento somente na banda beta da VLDL e outra parte (8,3%) possui, além do aumento nesta fração, um aumento de quilomicra.

Nossos resultados mostraram que os indivíduos descendentes de japoneses da região de Cascavel-PR comportam-se de maneira diferente daqueles indivíduos da mesma região, mas sem esta ascendência quanto ao nível de lipídios, apolipoproteínas A-1 e B e lipoproteínas plasmáticas.

## 6 CONCLUSÕES

Estudando os indivíduos com e sem ascendência japonesa da região de Cascavel-PR, podemos chegar às seguintes conclusões:

- há mais indivíduos de ascendência japonesa (18,7%) com níveis de triglicerídios acima da normalidade do que indivíduos sem esta ascendência (8,4%);
- a idade de aparecimento de níveis aumentados de triglicerídios na população japonesa foi a partir de 30 anos e para os indivíduos sem esta ascendência foi a partir de 40 anos;
- os indivíduos com níveis de triglicerídios acima da normalidade apresentaram níveis de HDL-colesterol e apolipoproteína A-I menores e diferentes daqueles indivíduos sem esta alteração;
- há mais indivíduos de ascendência japonesa (69,7%) com níveis de colesterol total acima da normalidade do que indivíduos sem esta ascendência (37,5%);

- a partir da faixa etária de 10-19 anos foi observado indivíduos com ascendência japonesa e níveis de colesterol total acima da normalidade. Nos indivíduos sem esta ascendência a idade de aparecimento de níveis de colesterol total acima de 200 mg/dL foi a partir de 30 anos;
- não houve diferença entre o número de indivíduos sem ascendência japonesa e HDL-colesterol abaixo da normalidade (9,4%) e o número de indivíduos descendentes de japoneses (8,4%);
- em ambos os grupos a faixa etária onde apresentaram níveis de HDL-colesterol abaixo do normal foi a partir dos 30 anos;
- há mais indivíduos com ascendência japonesa (61,3%) com níveis de LDL-colesterol acima da normalidade do que indivíduos sem esta ascendência (31,3%);
- a partir da faixa etária de 10-19 anos os indivíduos com ascendência japonesa apresentaram níveis de LDL-colesterol acima da normalidade. No grupo sem esta ascendência japonesa a idade foi a partir dos 30 anos;
- os indivíduos com níveis de LDL-colesterol aumentados também apresentaram valores maiores da apolipoproteína B quando comparados com o outro grupo;

- há mais indivíduos de ascendência japonesa (18,7%) com níveis de VLDL-colesterol acima da normalidade do que indivíduos sem esta ascendência (8,4%);
- os níveis de apolipoproteína A-I e B apresentaram valores relacionados as lipoproteínas as quais pertencem, HDL e LDL, respectivamente. Quando apresentavam um aumento na lipoproteína, respectivamente aumentava a concentração da apolipoproteína;
- observamos dois padrões eletroforéticos de lipoproteínas na população japonesa: 10,4% dos indivíduos japoneses obtiveram alterações na banda pré-beta relacionada ao VLDL-colesterol e 8,3% obtiveram alterações nas bandas da origem (quilomicra) e na banda pré-beta.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anderson AJ, Sobocinski KA, Freedman DS, Barboriak JJ, Rimm AA, Gruchow HW. **Body fat distribution, plasma lipids, and lipoproteins.** *Atherosclerosis* 1988,8:88-94.

Austin MA, Rodriguez BL, Naknight B, Mcneely MJ, Edwards KL, Curb JD, Sharp DS. **Low-density lipoprotein particle size, triglyceride, and high-density lipoprotein cholesterol as risk factors for coronary heart disease in older japanese-american men.** *Am J Cardiol* 2000,86:412-416.

Austin MA, et al. **Characterization of low-density lipoprotein subclasses: methodologic approaches and clinical relevance.** *Curr Opin Lipidol* 1994,5(6):395-403.

Bagdade JD, Ritter MC, Subbiah PV. **Accelerated cholesteryl ester transfer in plasma of patients with hypercholesterolemia.** *J Clin Invest* 1991,87:1259-1265.

Berenson GS, Wattigney WA, Tracy RE. **Atherosclerosis of the aorta and coronary arteries and cardiovascular risk factor in persons aged 6-30 years and studied at necropsy (The Bogalusa Heart Study).** *Am J Cardiol* 1992,70:851-858.

Birchbauer A, Knipping G, Juritsch B, Aschauer H, Zechner R. **Characterization of the apolipoprotein AI and CIII genes in the domestic pig.** Genomics 1993,15(3):643-652.

Brites FD, Bonavita CD, Cloes M, Yael MJ, Fruchart JC, Castro GR. **VLDL compositional changes and plasma levels of triglycerides and high density lipoprotein.** Clin Chim Acta 1998,269:107-124.

Brites FD, Bonavita CD, Geitere C, Cloes M, Delfly B, Yael MJ, Fruchart JC, Wikinski RW, Castro GR. **Alterations in the main steps of reverse cholesterol transport in male patients with primary hypertriglyceridemia and low HDL-cholesterol levels.** Atherosclerosis 2000,152:181-192.

Buring JE, O'Corner GT, Goldhaber SZ, Rosner B, Herbert PN, Blum CB, Breslow JL, Hennekens CH. **Decreased HDL<sub>2</sub> and HDL<sub>3</sub> cholesterol, apo A-I and apo A-II, and increased risk of myocardial infarction.** Circulation 1993,38:1-29.

Burnett JR, Wilcox LJ, Huff MW. **Acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase inhibition and hepatic apolipoprotein B secretion.** Clin Chim Acta 1999,286:231-242.

Burchfiel CM, Abbott RD, Sharp DS, Curb JD, Rodriguez BL, Yano K. **Distribution and correlates of lipids and lipoproteins in elderly japanese-american men.** Arter Throm Vasc Biol 1996,16:1356-1364.

Burtis CA, Ashwood ER. **Tietz – Fundamentos de Química Clínica.** 4 ed. Guanabara Koogan, 1998, Rio de Janeiro – RJ

Carrier F, Barrwman JA, Verger R, Laugier R. **Secretion and contribution to lipolysis of gastric and pancreatic lipases during a test meal in humans.** Gastroenterology 1993,105:876-878.

Castelli WP, Garisson RJ, Levy D. **Incidence of coronary heart disease and lipoprotein in cholesterol levels. The Framingham Study.** JAMA 1986;256:2835-2838.

Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PW, Abbott RD, Kalousdian S, Kannel WB. **Incidence os coronary disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham Study.** J Am Med Assoc 1986,256(20):2835-2838.

Chang TY, Chang CCY, Cheng D. **Acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase.** Annu Ver Biochem 1997,66:613-638.

Cladaras C, Hadzopoulou M, Nolte RT, Atkinson D, Zannis VI. **The complete sequence and structural analisis of human apolipoprotein B-100: Relationship between apo B-100 and apo B-48 forms.** EMBO J 1986,5:3495-3507.

Contois JH, Gillmor RG, Moore RE, Contois LW, Macer JL, Wu AHB. **Quantitative determination of cholesterol in lipoprotein fractions by electrophoresis.** Clin Chim Acta 1999,282:1-14.

Criqui MH, Golomb BA. **Epidemiologic aspects of lipid abnormalities.** Am J Med 1998,105(1A):48S-57S.

Criqui MH, Heiss G, Cohn R, Cowan LD, Suchindran CM, Bangdiwala S, Kritchevsky S, Jacobs DR, O'Grady, Davis CE. **Plasma triglyceride level and mortality from coronary disease.** N Eng J Med 1993,328:1220-1225.

Cullen P. **Evidence that triglyceride are an independent coronary heart disease risk factor.** 2000,86:943-949.

Das HK, Jackson CL, Miller DA, Leff T, Breslow JL. **The human apolipoprotein CII gene sequence contains a novel chromosome 19-specific minisatellite in its third intron.** J Biol Chem 1987,262(10):4787-4793.

Deckelbaum RJ, Eisenberg S, Oschry Y, Butbul E, Sharon I, Olivecrona T. **Reversible modification of human plasma low density lipoproteins toward triglyceride-rich precursors. A mechanism for losing excess cholesterol esters.** J Biol Chem 1982,257:6509-6517.

Dietschy JM, Turkey SD, Spady DK. **Role of the liver in the maintenance of cholesterol and low density lipoprotein homeostasis in different animals species, including humans.** J Lipid Res 1993,34:1637-1659.

Drayna DT, Mclean JW, Wion KL, Trent JM, Drabkin HA, Lawn RM. **Human apolipoprotein D gene: gene sequence, chromosome localization, and homology to the alpha 2u-globulin superfamily.** DNA 1987,6(3):199-204.

Drexel H, Amann FW, Rentsch K, Neuenschwander C, Luethy A, Khan SI, Follath F. **Relation of the level of high-density lipoprotein subfractions to the presence and extent of coronary artery disease.** Am J Cardiol 1992,70(4):436-440.

**Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III).** JAMA 2001,285:2486-2497

Fidge NH. **High density lipoprotein receptors, binding proteins, and ligands.** J Lipid Res 1999,40:187-201.

Franceschini G, Bondioli A, Granta D, Mercuri V, Negri M, Tosi C, Sirtori CR. **Reduced HDL2 levels in myocardial infarction patients without risk factors for atherosclerosis.** Atherosclerosis 1987,68(3):213-219.

Frontini MG, Srinivasan SR, Elkasabany A, Berenson GS. **Distribution and cardiovascular risk correlates of serum triglycerides in young adults from biracial community The Bogalusa Heart Study.** *Atherosclerosis* 2001;155,201-209.

Gardner CD, Fortmann SP, Krauss RM. **Association of small low-density lipoprotein particles with the incidence of coronary artery disease in men and women.** *JAMA* 1996,276(11):875-881.

Giannini SD. **Doença coronariana aterosclerótica e colesterol.** *Rev Bras Med* 1989,46:31-38.

Ginsberg HN, Jones J, Blaner WS. **Association of postprandial triglyceride and retinyl palmitate response with newly diagnosed exercise-induced myocardial ischemia in middle-age men and women.** *Atheroscl Thromb Vasc Biol* 1995,15:1829-1838.

Gordon DA. **Recent advances in elucidating the role of the microsomal triglyceride transfer protein in apolipoprotein B lipoprotein assembly.** *Curr Opin Lipidol* 1997,8:131-137.

Griedling KK, Alexander RW. **Oxidative stress and cardiovascular disease.** *Circulation* 1997,96:3264-3265.

Hussain MM, Kancha RK, Zhou ZY, Luchoomun J, Zu HY, Bakillah A. **Chylomicron assembly and catabolism: role of apolipoproteins and receptors**. Biochim Biophys Acta 1996,1300:151-159

Jacobs DR, Mebane IL, Bangdiwala SI, Criqui MH, Tyroler HÁ. **High density lipoprotein cholesterol as a predictor of cardiovascular disease mortality in men and women: the follow-up study of the Lipid Research Clinics Prevalence Study**. Am J Epidemiol 1990,131(1):32-47.

Jeanpierre M, Weil D, Hors-cayla MC, Willianson R, Jumien C, Humphries SE. **Gene for apolipoprotein CII is on human chromosome 19**. Somat Cell Mol Genet 1984,10(6):645-649.

Jeppesen J, Hein HO, Suadicani P, Gyntelberg F. **Relation of high TG-low HDL cholesterol and LDL cholesterol to the incidence of ischemic heart disease**. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997,17:1114-1120.

Jeppesen J, Hein HO, Suadicani P, Gyntelberg F. **Triglyceride concentration and ischemic heart disease: an eight-year follow-up in the Copenhagen Male Study**. Circulation 1998,97:1029-1036.

Kalofoutis A, Papapanagiotou A, Tzivras M. **Clinical significance of plasma HDL subfractions (HDL2, HDL3) in patients with peripheral arterial disease (PAD) in the Greek population**. Clin Biochem 1999,32(2):149-152.

Kazumi T, Kawaguchi A, Hozumi T, Ishida Y, Yoshino G. **Serum HDL cholesterol values are associated with apoB-containing lipoprotein metabolism and triglyceride-body fat interrelation in young Japanese men.** *Atherosclerosis* 1997,130:93-100.

Krauss RM. **Dense low density lipoproteins and coronary artery disease.** *Am J Cardiol* 1995,75(6):53B-57B.

Lamarche B, Moorjani S, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ, Despres JP. **Associations of HDL2 and HDL3 subfractions with ischemic heart disease in men. Prospective results from Quebec Cardiovascular Study.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997,17(6):1098-1105.

Lamarche B, Moorjani S, Lupien PJ, Cantin B, Bernard PM, Dagenais GR, Despres JP. **Apolipoprotein A-I and B levels and the risk of ischemic heart disease during a five-year follow-up of men in the Quebec Cardiovascular Study.** *Circulation* 1996,94:273-278.

Lamarche B, Shirya R, Lewis GF. **HDL metabolism in hypertriglyceridemic states: an overview.** *Clin Chim Acta* 1999,286:145-161.

Lehner R, Kuksis A. **Triacylglycerol synthesis by purified triacylglycerol synthetase of rat intestinal mucosa.** *J Biol Chem* 1995,270:13630-13636.



Lin-Lue YC, Kao FT, Cheung P, Chan L. **Apolipoprotein E gene mapping and expression: localization of the structural gene to human chromosome 19 and expression of apo E mRNA in lipoprotein- and non-lipoprotein-producing tissues.** Biochemistry 1985, 24(14):3751-3756.

Mahley RW, Innerarity TL, Rall SC, Weisgraber KH. **Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function.** J Lipid Res 1984,25:1277-1294.

Marleen MJVG, Tjerk WAB. **Chylomicron synthesis by intestinal cells in vitro and in vivo.** Atherosclerosis 1998,141(1):S9-S16.

Maciejko JJ, Holmes DR, Kottke BA, Zinsmeister AR, Dinh DM, Mao STJ. **Apolipoprotein A-I as marker of angiographically assessed coronary-artery disease.** N Engl J Med 1983,309:385-389.

Mamo JCL. **Atherosclerosis as a postprandial disease.** Endocrinol Metab 1995,2:229-244.

McNamara JR, Jenner JL, Li Z, Wilson PWF, Schaefer EJ. **Change in LDL particle size is associated with change in plasma triglyceride concentration.** ArteriosclerThromb 1992,12:1284-1290.

Mietus-Snyder M, Charmley P, Korf B, Ladas JA, Gatti RA, Karathanasis SK. **Genetic linkage of human apolipoprotein AI-CIII-AIV gene cluster and the neural cell adhesion molecule (NCAM) gene.** Genomics 1990,7(4):633-637.

Miller M, Seidler A, Moaleni A, Pearson TA. **Normal triglyceride levels and coronary disease events: The Baltimore Coronary Observational Long-Term Study.** J Am Coll Cardiol 1998,31:1252-1257.

Namekata T, Moore DE, Suzuki K, Mori M, Knop RH, Marcovina SM, Perrin EB, Hughes DA, Hatano, Hayashi C. **Biological and lifestyle factors, and lipid and lipoprotein levels among japanese americans in Seattle and japanese men in Japan.** Int J Epidemiol 1997,26(6):1203-1213.

Namekata T, Moore DE, Knopp RH. **Cholesterol levels among japanese americans and other populations: Seattle Nikkei Health Study.** J Atherosclerosis Thromb 1996,2:101-109.

Navab M, Berliner JA, Watson AD. **The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak: a review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture.** Arterioscler Thromb Vasc Biol 1996,16:831-842.

Noma A, Yokosuka T, Kitamura K. **Plasma lipids and apolipoproteins as discriminators for presence and severity of angiographically defined coronary artery disease.** Atherosclerosis 1983,49:1-7

Patsch JR, Miesenbock G, Hopferwieser T, Muhlberger V, Knapp E, Kay Dunn. **Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease.** Arterioscler Thromb 1992,12:1336-1345.

Rader DJ, Hoeg JM, Brewer HB. **Quantification of plasma apolipoprotein in the primary and secondary prevention of coronary artery disease.** Ann Intern Med 1994,120:1012-1025.

Rader DJ, Ikemaki K. **Unravelling high-density lipoprotein-apolipoprotein metabolism in human mutants and animal models.** Curr Opin Lipidol 1996,7:117-123.

Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH. **Handbook of lipoprotein testing.** 1997

Robertson TL, Tillotson J, Nichaman MZ. **Epidemiologic studies of coronary heart disease and stroke in Japanese men living in Japan, Hawaii and California: coronary heart disease risk factors in Japan and Hawaii.** Am J Cardiol 1977,39:244-249.

Ros E. **Intestinal absorption of triglyceride and cholesterol. Dietary and pharmacological inhibition to reduce cardiovascular risk.** Atherosclerosis 2000,151:357-379.

Ross R. **The pathogenesis of atherosclerosis: a prospective for the 1990's.** Nature 1993,362:801-809.

Ross R. **Atherosclerosis - an inflammatory disease.** N Eng J Med 1999,340:115-126.

Sakata K, Miho N, Shirotani M, Yoshida H, Takada Y, Takada A. **Remnant like-particle cholesterol is a major risk for myocardial infarction in vasospastic angina with nearly normal coronary artery.** Atherosclerosis 1998,136:225-231.

Sakurabayashi I, Saito Y, Kita T, Matsuzawa Y, Goto Y. **Reference intervals for serum apolipoproteins A-I, A-II, B, C-II, C-III, and E in healthy Japanese determined with a commercial immunoturbidimetric assay and effects of Sex, age, smoking, drinking, and Lp(a) level.** Clin Chim Acta 2001,312:87-95.

Schneider WJ, Nimpf J. **Lipoprotein receptors: old relatives and new arrivals.** Curr Opin Lipidol 1993,4:204-209.

Scott J, Knott TJ, Shaw DJ, Brook JD. **Localization of genes encoding apolipoproteins CI,CII, and E to the p13----cen region of human chromosome 19.** Human Genet 1985,71(2):144-146.

Scriver CR, Beaudit AL, Sly WS, Valle D, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B. **The metabolic & molecular bases of inherited disease.** 8 ed. VII, MacGraw-Hill, New York, 2001:2789-2819.

Shekelle RB, Shryock AM, Paul O. **Diet, serum cholesterol, and death from coronary heart disease: the Western Electric Study.** N Engl J Med 1981,304:65-70.

Shiau YF, Popper DA, Reed M, Umstetter C, Capuzzi D, Levine GM. **Intestinal triglycerides are derived from both endogenous and exogenous sources.** Am J Physiol 1985,248:164G-169G.

Sich D, Saidi Y, Giral P, Lagrost L, Dallongeville J, Federspiel MC, Cherfils C, Rissonnier A, Trupin G, Beucler. **Characterization of two HDL subfractions and LpA-I, LpA-I:A-II distribution profiles and clinical characteristics of hyperalphalipoproteinemic subjects without cholesterol ester transfer protein deficiency.** Atherosclerosis 1998,138:351-360.

Smilde TJ, Wissen S, Wollersheim H, Kastelein JJP, Stalenhoel AFH. **Genetic and metabolic factors predicting risk of cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia.** The Netherl J Med 2001,59:184-195

Sniderman AD, Cianflone K. **Lipids and vascular disease: what we do and do not know.** Clin Chim Acta,1999:7-22.

Steinberg D. **Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance.** J Biol Chem 1997,272:20963-20966.

Stravitz RT, Hylemon PB, Vlahcevic ZR. **The catabolism of cholesterol.** Curr Opin Lipidol 1993,4:223-229.

Stremmel W, Kleinert H, Fitscher BA, Gunawan J, Klaassen CS, Moller K, Wegener M. **Mechanism of cellular fatty acid uptake.** Biochem Soc Trans 1992,20:814-820.

Syvanne M, Kahri J, Virtanen KS, Taskinen MR. **HDLs containing apolipoproteins A-I and A-II (LpAI:A-II) as markers of coronary artery disease in men with non-insulin dependent diabetes mellitus.** Circulation 1995,92:364-370.

Tall AR. **Plasma cholesteryl transfer protein and high density lipoproteins: new insights from molecular genetic studies.** J Internal Med 1995,237:5-12.

Teng B, Verp M, Salonen J, Davidson NO. **Apolipoprotein B messenger RNA editing is developmentally regulated and widely expressed in human tissue.** J Biol Chem 1990,265:2616-2620.

The International Committee for Evaluation of Hypertriglyceridemia as a Vascular Risk Factor. **The hypertriglyceridemias: risk and management.** Am J Cardiol 1991,68:1A-42A.

Thomson ABR, Schoeller C, Keelan M, Smith L, Clandinin MT. **Lipid absorption; passing through the unstirred layers, brush-border membrane, and beyond.** Can J Physiol Pharmacol 1993,71:531-555

Wikvall K. **Conversion of cholesterol into bile acids.** Curr Opin Lipidol 1990,1:248-254.

Wilson MD, Rudel LL. **Review of cholesterol absorption with emphasis on dietary and biliary cholesterol.** J Lipid Res 1994,35:943-955.

Wood D, De Backer G, Faergemann O, Graham I, Mancia G, Pyorala K. **Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Recommendations of the second joint Task Force of European and other Societies on Coronary Prevention.** Eur Heart J 1998,19:1434-1503.

Yamamoto T, Bujo H. **Close encounters with apoprotein E receptors.** Curr Opin Lipidol 1996,7:298-302.

Yamamoto A, Horibe H, Mabuchi H, Kita T, Matsuzawa Y, Saito Y, et al. **Analysis of serum lipid levels in Japanese men and women according to body mass index. Increase in risk of atherosclerosis in postmenopausal women.** Atherosclerosis 1999,143:55-73.

Zakim D. **Fatty acids enter cells by simple diffusion.** Proc Soc Exp Biol Med 1996,212:5-10.

Zhong S, Sharp DS, Grove JS, Bruce C, Yano K, Curb JD, Tall A. **Increased coronary heart disease in japanese-american men with mutation in the cholesteryl ester transfer protein gene despite increased HDL levels.** J Clin Inves 1996,97:2817-2923.



## ANEXO 1

Valores de F quando  $p < 0,05$  nas diferentes faixas etárias para triglicéridios, colesterol total, HDL-colesterol e LDL-colesterol nos 4 grupos analisados.

Faixa etária	Ensaio			
	Triglicéridios	Colesterol total	HDL-colesterol	LDL-colesterol
10 a 19		F(2,17)=6,29; p<0,05		F(2,17)=4,97; p<0,05
20 a 29		F(2,31)=16,46; p<0,001		F(2,31)=19,06; p<0,001
30 a 39	F(3,15)=10,01; p<0,05	F(3,15)=7,04; p<0,05	F(3,15)=3,98; p<0,05	F(3,15)=26,27; p<0,001
40 a 49	F(3,27)=13,96; p<0,001	F(3,27)=18,19; p<0,001	F(3,27)=3,12; p<0,05	F(3,27)=23,36; p<0,001
50 a 59	F(37,3)=25,45; p<0,001	F(3,37)=30,47; p<0,001	F(3,37)=5,13; p<0,05	F(3,37)=32,27; p<0,001
60 a 69	F(3,37)=22,07; p<0,001	F(3,37)=23,25; p<0,001	F(3,37)=8,19; p<0,001	F(3,37)=23,89; p<0,001
70 a 89	F(3,21)=27,10; p<0,001	F(3,21)=16,52; p<0,001	F(3,21)=3,31; p<0,05	F(3,21)=18,95; p<0,001