



FIOCRUZ

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

**Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina
Investigativa**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**INCORPORAÇÃO E ESTERIFICAÇÃO DO COLESTEROL NA LIPOPROTEÍNA
DE ALTA DENSIDADE (HDL): AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES
PLASMÁTICOS E DO DIAGNÓSTICO POR IMAGEM (ECOGRAFIA VASCULAR
COM DOPPLER) RELACIONADOS COM A DOENÇA ATEROGÊNICA DE
CARÓTIDAS EXTRACRANIANAS E ARTÉRIAS VERTEBRAIS**

ROGERIO JORGE BARBOSA DE OLIVEIRA

Salvador – Brasil

2012

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ

Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina
Investigativa

INCORPORAÇÃO E ESTERIFICAÇÃO DO COLESTEROL NA LIPOPROTEÍNA
DE ALTA DENSIDADE (HDL): AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES
PLASMÁTICOS E DO DIAGNÓSTICO POR IMAGEM (ECOGRAFIA VASCULAR
COM DOPPLER) RELACIONADOS COM A DOENÇA ATEROGÊNICA DE
CARÓTIDAS EXTRACRANIANAS E ARTÉRIAS VERTEBRAIS

ROGERIO JORGE BARBOSA DE OLIVEIRA

Orientador: Prof^o Dr. Ricardo David Couto

Dissertação apresentada ao Curso de
Pós-Graduação em Biotecnologia em
Saúde e Medicina Investigativa para a
obtenção do grau de Mestre.

Salvador – Brasil

2012

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

- O48i Oliveira, Rogerio Jorge Barbosa de
Incorporação e esterificação do colesterol na lipoproteína de alta densidade (HDL): avaliação de biomarcadores plasmáticos e do diagnóstico por imagem (ecografia vascular com doppler) relacionados com a doença aterogênica de carótidas extracranianas e artérias vertebrais. [manuscrito] / Rogerio Jorge Barbosa de Oliveira . - 2012.
117 f.; 30 cm
- Datilografado (fotocópia).
- i.
- ii. **Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia - Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz. Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa, 2012.**
Orientador: Profº Drº. Ricardo David Couto.
1. Aterosclerose 2. Espessamento médio-intimal. 3. Ecocardiografia vascular. 4. Paraoxonase. 5. Lipoproteínas. 6. Transferência de colesterol I.Título.

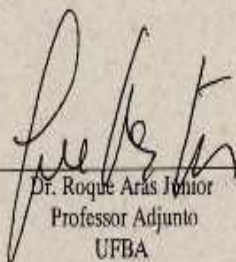
CDU 616.13-004.6

"INCORPORAÇÃO E ESTERIFICAÇÃO DO COLESTEROL NA LIPOPROTEÍNA DE ALTA DENSIDADE (HDL): AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES PLASMÁTICOS E DO DIAGNÓSTICO POR IMAGEM (ECOGRAFIA VASCULAR COM DOPPLER) RELACIONADOS COM A DOENÇA ATEROGÊNICA DE CARÓTIDAS EXTRACRANIANAS E ARTÉRIAS VERTEBRAIS"


ROGÉRIO JORGE BARBOSA DE OLIVEIRA

FOLHA DE APROVAÇÃO

COMISSÃO EXAMINADORA



Dr. Roque Arás Junior
Professor Adjunto
UFBA



Dr. Daniel Abensur Athanázio
Professor Adjunto
UFBA

DEDICATÓRIA

**Aos meus filhos Lucas, Pedro e Rafael
e à minha esposa Denise**

A minha avó Laura (*in memorian*)

Aos meus pais

Aos amigos (*in memorian*): Altivo e Dr. Herman

AGRADECIMENTOS

Acredito que voar significa ser feliz, acreditar no Ser Supremo e na própria competência. A vocês que abdicaram tantas vezes de suas particularidades em prol do meu projeto. Que sofreram a minha ausência quando o dever do conhecimento me chamava, sempre presentes e compreensivos, lidando muitas vezes com a mudança de humor, e dando-me força quando não havia mais, meu muito obrigado! Obrigado a todos que vêm com contentamento o fim desta etapa e que sempre torceram por mim.

À minha esposa Denise e aos meus filhos Lucas, Pedro e Rafael, pelo irrestrito apoio, pelos ombros e ouvidos, pela partilha das angústias e conquistas. Pela compreensão das interferências em nossa vida familiar, decorrentes das atividades do mestrado, por me confortar e por estarem presentes em todos os momentos.

Aos pacientes, componentes essenciais desta pesquisa, agradeço mais que a colaboração o auxílio, a disposição à construção do conhecimento; com cada um aprendi novas e ricas lições, fiz bons amigos e levarei eternas lembranças.

Ao Professor Dr. Ricardo David Couto, por ter me dado a honra de ser meu orientador. Com a postura dos grandes mestres, orientou este trabalho desde a fase de projeto à elaboração final. Também pelo convívio grandioso em exemplos e ensinamentos.

Aos Professores da FIOCRUZ e do CPqGM, em especial àqueles com quem tive o privilégio de ser aluno nas disciplinas da pós-graduação.

À FIOCRUZ e ao CPqGM que, com seus programas qualificados de pós-graduação, contribuíram significativamente para minha formação e para o desenvolvimento da Ciência em nosso país.

Agradeço a colaboração do Comandante e Professor José Silva Bastos pela consultoria, apoio e revisão prestadas para a finalização deste trabalho.

À direção do Hospital Naval de Salvador, que me possibilitou a chance do trabalho nesta instituição hospitalar-militar.

Ao Laboratório de Bioquímica Clínica do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da UFBA, em nome do Prof. Dr. Ajax Mercês Atta e Dr. Ricardo David Couto pelo apoio, contribuição e utilização do laboratório de análises clínicas com sua equipe de dedicação incansável.

Aos alunos da iniciação científica e pós-graduandos do Laboratório de Bioquímica Clínica do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da UFBA, em especial à pós-graduanda Ana Paula Caíres e ao Bioquímico Lázaro, que colaboraram com a realização das dosagens bioquímicas específicas e gerais no laboratório de referência em Bioquímica Clínica.

Às minhas secretárias e ajudantes Diana Salles e Elaine Souza, pelo profissionalismo, empenho, amizade e cooperação.

Ao Lázaro Costa, agradeço por colaborar com sua autorização e presença, participando como modelo fotográfico na realização do exame de doppler de carótidas.

Meus sinceros agradecimentos a todos colaboradores e pacientes que tornaram possível a realização deste trabalho.

A **DEUS**, Pai infinitamente misericordioso e bom.

“Aprender é mudar posturas”.
Platão

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abs	Absorbância
ACAT	Acil-CoA Colesterol Acil-Transferase
ACC	Artéria carótida comum
ALT	Aspartato alaninotransferase
AIT	Acidente isquêmico transitório
apo	Apoproteína
AVE	Acidente vascular encefálico
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CE	Colesterol esterificado
CETP	Proteína de Transferência de Éster de Colesterol
CK	Creatinofosfoquinase
CL	Colesterol livre
CMI	Complexo médio intimal
CT	Colesterol total
DAC	Doença arterial coronária
DCA	Doença carotídea aterosclerótica
DHA	Ácido docosaexaenóico
DM	Diabetes mellitus
EC	Éster de Colesterol
EMI	Espessamento médio intimal
EPA	Ácido eicosapentaenóico
ERF	Escore de risco de Framingham
FDA	Food and Drug Administration
FR	Fator de risco
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IAM	Infarto agudo do miocárdio
ICT	Isquemia cerebral transitória
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
LCAT	Lecitina colesterol acil-transferase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade

LPL	Lipase lipoproteica
LSN	Limite superior da normalidade
MEV	Mudança de estilo de vida
nm	Nanômetro
NO	Óxido nítrico
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR-us	Proteína C reativa ultrasensível
PG	Prostaglandina
PLTP	Proteína transportadora de fosfolipídios
PON	Paraoxonase
SCA	Síndrome coronária aguda
SNC	Sistema nervoso central
TG	Triglicerídeos
TRC	Transporte reverso de colesterol
USG	Ultrassonografia
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa
V.O	Via oral
vs	versus

Oliveira, RJB. Incorporação e esterificação do colesterol na lipoproteína de alta densidade (HDL): avaliação de biomarcadores plasmáticos e do diagnóstico por imagem (ecografia vascular com doppler) relacionados com a doença aterogênica de carótidas extracranianas e artérias vertebrais. 114 f. il. Dissertação (Mestrado). Bahia: Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz; 2011.

RESUMO

As complicações da aterosclerose agregam as principais causas de morte no mundo relacionada a problemas cardiovasculares. É caracterizada por distúrbio da condição mecânica e fisiológica, que promove espessamento e endurecimento nas artérias coronárias, cerebrais e periféricas, ocasionando lesão inflamatória crônica, rica em lipídios e células características do processo inflamatório nas paredes vasculares. **Objetivos:** Avaliar concentrações plasmáticas de biomarcadores do metabolismo lipídico e resultados de doppler de carótidas, relacionando-os com a doença aterogênica de carótidas. **Delineamento:** Estudo de Corte Transverso. **Casuística e Métodos:** 66 pacientes com idade $57,5 \pm 15,5$ anos, (20 a 77), 63% mulheres. Na análise estatística utilizaram-se testes paramétricos e não-paramétricos, valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. **Resultados:** Verificou-se DCA na população masculina a partir da faixa 36-45 anos; nas mulheres, a doença pôde ser detectada a partir de 46-55 anos, elevando-se em ambos gêneros conforme aumento da idade. Tivemos maior prevalência de DCA no gênero feminino (33% contra apenas 15%), na faixa de 56-65 anos, mostrando RR de 1,56 para o gênero feminino ($p < 0,002$; teste de Fisher, com aproximação de Katz). Quanto ao perfil clínico, houve prevalência de 53% pacientes com DCA; 82% pacientes estavam em uso de medicação regular para quaisquer das doenças progressas; 68% hipertensos; 73% dislipidêmicos; 11% coronariopatas; 4% apresentaram AVE e 64% faziam uso regular de hipolipemiantes. O teste de Fisher evidenciou diferentes RR em função da presença ou não de DCA: Hipotireoidismo (DCA vs NDCA, $p < 0,555$; RR=1,0); (DCA vs EMI, $p < 0,0001$; RR=5,2); Dislipidemia (DCA vs NDCA, $p < 0,001$; RR=1,62); HAS (DCA vs NDCA, $p < 0,003$; RR=1,76); DM (DCA vs NDCA, $p < 0,001$; RR=3,6); AVE (DCA vs NDCA, $p < 0,0001$; RR=2,03); DAC (DCA vs NDCA, $p < 0,0001$; RR=6,14). Predominaram estenoses leves em 44%, estenoses moderadas em 9%, não foram observados pacientes com estenose severa ou oclusão. A avaliação dos dados de colesterol livre e total de colesterol marcado na fração HDL diferiu entre os grupos estratificados por HDL-C maior e menor do que 40mg/dl e para as condições DCA e sem DCA ($p = 0,0409$ e, $p = 0,0475$ teste t), respectivamente. A análise de correlação linear de Pearson entre os dados de atividade de PON1 quando HDL-C < 40 mg/dl e incorporação de colesterol livre e, também entre percentual de esterificação CL/CE foi significativa ($r = -0,6$; $p = 0,048$; $n = 20$ e $r = -0,7$; $p = 0,006$; $n = 12$), respectivamente. **Conclusões:** Evidenciado presença da DCA com aumento da idade conforme literatura; prevaleceu DCA no perfil clínico dos participantes do estudo; as doenças de base identificadas elevam o risco para DCA; o transporte reverso de colesterol é prejudicado na DCA.

Descritores: Aterosclerose, Espessamento médio-intimal, Ecocardiografia vascular, Paraoxonase, Lipoproteínas, Transferência de colesterol.

Incorporation and esterification of cholesterol in high density lipoprotein (HDL): evaluation of plasma biomarkers and diagnostic imaging (ultrasound doppler echocardiography vascular) disease-related atherogenic extracranial carotid and vertebral arteries. 114 f. il. Dissertação (Mestrado). Bahia: Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz; 2011.

ABSTRACT

Atherosclerosis is the leading cause death worldwide related from cardiovascular. Atherosclerosis is characterized by disturbance of mechanical and physiological condition, which promotes thickening and hardening of the coronary vessels, cerebral and peripheral inflammatory lesion causing chronic high-fat and abnormal cells in vascular walls.

Objectives: Assess plasma concentrations of biomarkers of lipid metabolism and vascular echocardiography results of carotid artery linking them with the disease of the carotid atherogenic. **Delineation:** Cross-sectional observational study. **Casuistry and Methods:** 66 patients aged 57.5 ± 15.5 years (20-77), 63% female. Were used in the statistical analysis parametric tests and non-parametric, p-values <0.05 was considered significant. **Results:** It was found in the DCA from the male population age 36-45 years, in women, the disease could be detected from 46-55 years, rising in both genders as age increases. We had a higher prevalence of DCA among females (33% versus 15%), range 56-65 years, showing an RR of 1.56 for females ($p <0.002$, Fisher's test with approximation of Katz). As the clinical profile, there was prevalence from 53% patients with DCA, 82% patients were taking regular medication for any of the previous diseases, 68% hypertensive, 73% had dyslipidemia, and of those, 53% had evidence of DCA associated with. Coronary artery disease 11%, 4% had stroke and 64% were regularly taking lipid-lowering. The Fisher test showed different RR due to the presence or absence of DCA: The Fisher test showed different RR due to the presence or absence of DCA: Hypothyroidism (DCA vs NDCA, $p <0.555$, RR = 1.0), (DCA vs. EMI, $p <0.0001$, RR = 5.2) ; Dyslipidemia (DCA vs NDCA, $p <0.001$, RR = 1.62), hypertension (DCA vs NDCA, $p <0.003$, RR = 1.76), DM (DCA vs NDCA, $p <0.001$, RR = 3.6), stroke (DCA vs NDCA, $p <0.0001$, RR = 2.03), DAC (DCA vs NDCA, $p <0.0001$, RR = 6.14). Mild stenosis predominated in 44%, moderate stenosis in 9%. Were not seen patients with severe stenosis or occlusion. The evaluation of data from free cholesterol and total cholesterol HDL fraction differed marked on stratified groups and increased HDL-C less than 40mg/dl and conditions and without DCA ($p = 0.0409$ and $p = 0, 0475$ t-test), respectively. The analysis of Pearson's linear correlation between the data of PON1 activity when HDL-C <40 mg/dl and incorporation of free cholesterol, and also between percentage of esterification CL / CE was significant ($r = -0.6$, $p = 0.048$ $n = 20$ and $r = -0.7$, $p = 0.006$, $n = 12$), respectively. **Conclusions:** Evidenced presence of DCA with increasing age according to the literature, DCA prevailed in the clinical profile of study participants, underlying diseases increase the risk identified for DCA, the reverse is impaired in DCA.

Keywords: Atherosclerosis, Intima-media thickness, echocardiography vascular, Paraoxonase, lipoproteins, Transfer of cholesterol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura química de uma molécula de colesterol	16
Figura 2	Estrutura química do colesterol esterificado	17
Figura 3	Constituição da lipoproteína de alta densidade (HDL)	19
Figura 4	Interconversão das subclasses de HDL ₂ e HDL ₃	20
Figura 5	Principais vias do transporte reverso de colesterol e metabolismo da HDL	21
Figura 6	Formação da HDL	25
Figura 7	Conformação estrutural da PON1	27
Figura 8	O endotélio e a evolução da placa aterosclerótica	29
Figura 9	Secção transversal de uma artéria de corpo humano	30
Figura 10	Elementos da placa aterosclerótica	33
Figura 11	Ruptura da placa, hemorragia e formação de trombo	35
Figura 12	Johann Christian Andreas Doppler	40
Figura 13	Imagens ecográficas de espessamento e placa de ateroma	42
Figura 14	Separação dos lipídios e colesterol sobre placa de vidro com camada de sílica gel 60H (CCD)	60
Figura 15	Estratos etários e percentual dos pacientes participantes do estudo	63
Figura 16	Presença de aterosclerose de carótida segundo faixa etária e sexo	64
Figura 17	Prevalência de doença aterosclerótica a partir do resultado do doppler relacionada ao perfil clínico dos participantes do estudo	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Valores de referência dos lipídios para indivíduos maiores de 20 anos de idade	23
Tabela 2	Grau de estenose por intervalos relacionados com diferentes prognósticos	44
Tabela 3	Placas de ateroma e ecogenicidade	45
Tabela 4	Alterações hemodinâmicas em diferentes graus de estenose	46
Tabela 5	Fatores agravantes de risco	50
Tabela 6	Medidas terapêuticas iniciais e período de reavaliação	51
Tabela 7	Histórico social dos pacientes participantes do estudo	66
Tabela 8	Índices de Castelli I, Castelli II e Gazziano, medidas de centralidade e dispersão dos indicadores calculados	66
Tabela 9	Dados de incorporação de CL/CE em CPM e percentual de esterificação	67
Tabela 10	Estimativas dos dados das atividades de PON1 para HDL-C > e < 40mg/dl	67

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	Colesterol livre (CL) e colesterol esterificado (CE)	16
2.2	Lipoproteína de alta densidade (HDL)	18
2.2.1	Estrutura da HDL	19
2.2.2	Função da HDL	21
2.2.3	Aspectos Clínicos	22
2.2.4	Relação HDL e Paraoxonase (PON)	25
2.3	Paraoxonase	26
2.3.1	PON1 e aterosclerose	27
2.4	Aterosclerose	28
2.4.1	Patologia da aterosclerose	28
2.4.1.1	Endotélio	28
2.4.2	Aterogênese	30
2.4.3	Placas estáveis e instáveis	35
2.4.4	Fatores de risco	36
2.4.5	Associação aterosclerose de carótida e coronária	37
2.4.6	Diagnóstico e tratamento	38
2.5	Doppler de carótidas e vertebrais	39
2.5.1	Histórico	39
2.5.2	Introdução à metodologia da Ecografia com doppler	40
2.5.3	Espessamento médio-intimal e placa aterosclerótica precoce	41
2.5.4	Clínica da aterosclerose: da suspeita ao exame	42
2.5.5	Suspeita clínica e exame clínico	42
2.5.6	Características morfológicas	43
2.5.7	Características hemodinâmicas	45
2.6	Terapêutica	47
2.6.1	Prevenção primária	47
2.6.2	Prevenção secundária	47
2.6.3	Prevenção terciária	48
2.7	Estratificação de risco	48

2.8	Doença carotídea sintomática	51
2.9	Doença carotídea assintomática	52
3	JUSTIFICATIVA	53
4	OBJETIVOS	54
4.1	Geral	54
4.2	Específicos	54
5	METODOLOGIA	55
5.1	Desenho do estudo e casuística	55
5.2	Seleção populacional	55
5.3	Avaliações clínica, laboratorial e por imagem	56
5.3.1	Anamnese	56
5.3.2	Métodos na realização da ecografia de carótidas e vertebrais	56
5.3.3	Avaliação por imagem do EMI	57
5.3.4	Classificação das lesões estenóticas	57
5.4	Determinações laboratoriais	58
5.4.1	Laboratório Clínico	58
5.4.2	Laboratório de Pesquisa	58
5.4.2.1	Tamanho das Partículas de HDL	58
5.4.2.2	Transferência de Colesterol Livre (CL) para a HDL	58
5.4.2.3	Atividade da paraoxonase	60
6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	61
7	ASPECTOS ÉTICOS	62
8	RESULTADOS	63
9	DISCUSSÃO	68
9.1	Limitações do estudo	73
10	CONCLUSÃO	75
11	PERSPECTIVAS FUTURAS	76
	REFERÊNCIAS	77
	ANEXOS	
	APÊNDICE	

1. INTRODUÇÃO

As complicações da aterosclerose agregam as principais causas de morte no mundo relacionada a problemas cardiovasculares. Doença caracterizada por distúrbio resultante de má condição mecânica e fisiológica que promove espessamento e endurecimento nas artérias coronárias, cerebrais e periféricos, ocasionada por inflamação crônica, rica em lipídios e células características do processo inflamatório nas paredes vasculares (CARVALHO et al, 2009).

As dislipidemias apresentam marcadores de risco que influenciam a formação de placas de ateroma nas paredes dos vasos, uma vez que se constata a diminuição plasmática de colesterol da HDL (lipoproteína de alta densidade). A HDL é responsável pela remoção de colesterol excedente dos tecidos extra-hepáticos, transportando-o novamente para o fígado, para que seja excretado pela bile, num processo chamado de transporte reverso de colesterol (SCHIAVO et al , 2003).

É possível afirmar que a aterogênese tem ligação com depósito das LDL oxidadas nas paredes vasculares (SANTOS 1999). A oxidação das LDL por substâncias quimioattractantes, que são responsáveis pelo transporte plasmático de colesterol, origina a formação de radicais livres na região íntima dos vasos e induz a migração de monócitos; a fagocitose destas partículas e formação de células espumosas aumenta a concentração de LDL modificada no interior da túnica íntima/média do endotélio (JORGE, 1997; LIMA et al, 2006).

A aterosclerose se inicia durante a infância, mas só se observam as lesões arteriais no decorrer de décadas, quando surgem os sintomas de lesão orgânica. Estudos revelam que maus hábitos alimentares como dietas ricas em gorduras saturadas e colesterol são fortes contribuintes para a formação das placas ateromatosas. (RIBEIRO & SHINTAKU, 2004).

O presente trabalho tem como escopo confirmar a presença da doença aterosclerótica, vista principalmente através da ultrassonografia de artérias carótidas e vertebrais com as alterações de biomarcadores plasmáticos, como a atividade de paraoxonase por análise *in vitro*, e a sua relação com o transporte reverso do colesterol de outras lipoproteínas para a HDL.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Colesterol livre (CL) e colesterol esterificado (CE)

O colesterol é uma molécula anfipática na qual há uma porção polar constituída por um grupamento hidroxila (OH) e outra porção, apolar, formada por cadeia e hidrocarbonetos (HC) e quatro anéis cíclicos derivados chamados de ciclopentanoperidrofenantreno, molécula classificada a partir do grupamento funcional como álcool de alta densidade (MURRAY, 2002). Pode se apresentar sob a forma livre (Figura 1) ou esterificada (Figura 2) - ésteres de colesterol são preferenciais tanto na partícula lipoproteica quanto no meio intracelular - não sendo encontrado nos vegetais, e sim, em animais juntamente com os fosfolipídios; possui função estrutural, formando a dupla camada que constitui as membranas celulares e a camada única que reveste as lipoproteínas e, por ser hidrofóbico, são transportados pelo plasma através das lipoproteínas (MAHLEY et al, 2008).

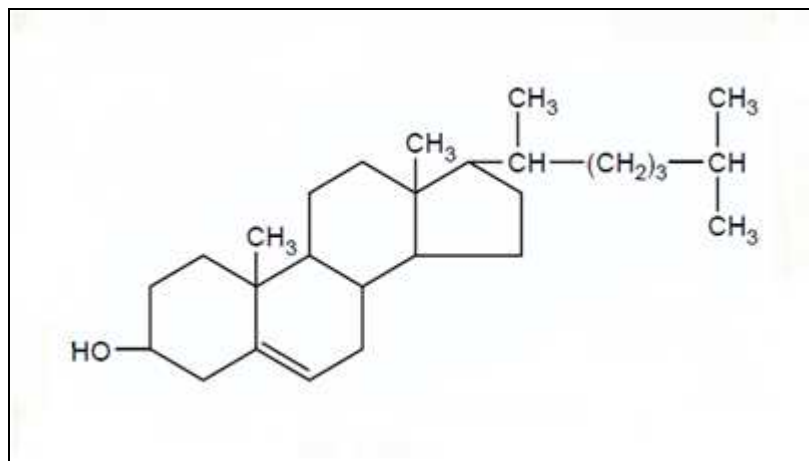


Figura 1: Estrutura química de uma molécula de colesterol.

Fonte: Guyton & Hall, 2006.

A formação do colesterol ocorre em quatro etapas:

- A) Condensação de três unidades de acetato, formando-se um intermediário com seis carbonos (mevalonato);
- B) Conversão do mevalonato em unidades ativadas de isopreno;
- C) Polimerização de seis unidades de isopreno com cinco carbonos, formando-se um esqualeno com 30 carbonos (molécula linear);

D) Ciclização do esqualeno, constituindo quatro anéis do núcleo esteróide, com uma série de alterações adicionais (oxidação, remoção ou migração de grupos metil) e, conseqüente produção de colesterol.

Na estrutura das lipoproteínas o colesterol sob forma livre é mais instável do que o colesterol esterificado, podendo haver fácil dissociação destas e conseqüente difusão no plasma; o fato de ser fracamente hidrossolúvel resulta numa precipitação destas moléculas, contribuindo para a deposição deste concentrado nas paredes dos vasos. O colesterol esterificado(CE) depende das proteínas de transferência de ésteres de colesterol(CETP) para se deslocar de uma lipoproteína à outra (GARRET & GRISHAM, 1995). O colesterol livre seria armazenado sob a forma de colesterol esterificado ou empregado na formação e recomposição da membrana celular (JORGE, 1997).

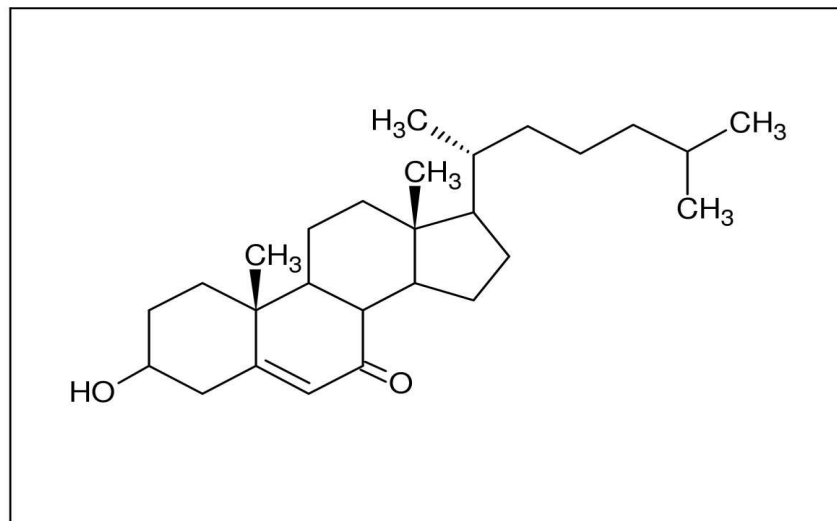


Figura 2: Estrutura química do colesterol esterificado.

Fonte: Mathieu et al, 2009

A Lecitina Colesterol Acil-Transferase (LCAT), proteína de transferência que atua diretamente na esterificação do colesterol livre ativada pela apo A-I, transferindo um ácido graxo da lecitina para a posição 3-β-hidroxi do colesterol, esterificando o mesmo; reação que ocorre principalmente nas HDL (fração que estabiliza o colesterol plasmático) (DOBIÁSOVÁ & FROHLICH, 1998). A Acil-CoA Colesterol Acil-Transferase (ACAT) é a responsável pela esterificação do colesterol no espaço intracelular, estabilizando e armazenando-o no espaço intracelular, o que elimina possíveis efeitos tóxicos do acúmulo de colesterol livre (CHANG et al, 2006).

O colesterol desempenha ainda outros importantes papéis no organismo, sendo precursor da biossíntese de ácidos biliares, hormônios esteróides secretados pelo córtex adrenal, gônadas e placenta e síntese de vitamina D (VOET, 1995). O maior controle na síntese e metabolismo do colesterol é decorrente da conversão de 3-hidroxi-3-metilglutamil-coenzima-A (HMG-CoA) a mavelonato, catalizada pela HMG-CoA redutase (MURRAY et al, 2002).

A proteína transportadora de ésteres de colesterol (CETP) é uma glicoproteína secretada pelo fígado e circulante no plasma, destinada principalmente para a HDL, o que promove a redistribuição de ésteres de colesterol, triglicerídeos, e, em menor grau, entre lipoproteínas e fosfolípidios plasmáticos. As CETP compensam os lípidos (CE/TG) das partículas lipoproteicas e os depositam em outras lipoproteínas resultando na compensação de lípidios entre as frações lipoproteicas. O efeito das CETP é tal qual uma rede de redistribuição massiva de colesterol esterificado das HDL para outras lipoproteínas ricas em triglicerídeos. Este mecanismo decorre da predominância de colesterol esterificado na HDL ser transferido para lipoproteínas ricas em triglicerídeos, a partir da ação da LCAT, CETP e PLTP. Esse mecanismo acarreta no remodelamento das partículas de HDL (BARTER et al, 2003).

2.2 Lipoproteína de alta densidade (HDL)

A lipoproteína de alta densidade é uma partícula protéica heterogênea de migração eletroforética alfa e densidade entre 1,063 e 1,21 g/ml (EISENBERG,1984) e composta por 45-55% de proteínas, 26-32% de fosfolípidos, 3-5% de colesterol, 15-20% de éster de colesterol e 2-7% de triglicérides (Figura 3). Sintetizada no fígado (principalmente) e no intestino, possui meia vida plasmática de cinco a seis dias. Quando lançada na corrente sanguínea possui forma discóide e é composta por colesterol, fosfolípidos e apolipoproteína A (apo A, de maior valor), apo E, apo IV, apo A-V, apo J, apo C-I, apo C-II e apo C-III (KARLSSON e t al, 2005). As apoproteínas apo A-I e a apo A-II situam-se na superfície externa da lipoproteína e possuem afinidades por receptores celulares totalmente diferentes do que os para a apoproteína B das lipoproteínas de baixa densidade (GUYTON, 2006).

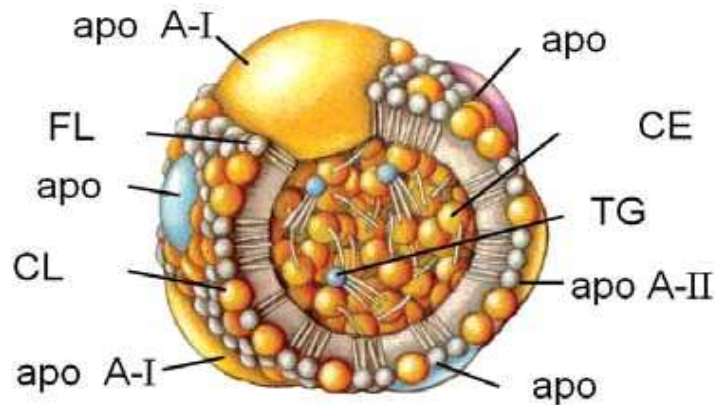


Figura 3: Constituição da lipoproteína de alta densidade (HDL): FL - fosfolípides; apo - apoproteína; CL - colesterol Livre; CE - colesterol esterificado; TG - triglicérides.

Fonte: Forti & Diament, 2006.

A HDL nascente é uma partícula instável e pronta para adquirir lipídeos (ATMEH & ABD ELRAZEQ, 2005). A lipidação inicial da HDL nascente ocorre na membrana celular via transportador *ATP-binding cassette transporter A1* (ABCA1), removendo fosfolípides e colesterol de tecidos hepáticos e extra-hepáticos (ORAM, 2002), resultando na formação da HDL discóide (pré-HDL). Depois da captação do excesso de colesterol das células de tecidos periféricos, e da superfície das lipoproteínas ricas em triglicérides, a HDL discóide é convertida em uma partícula menor, a HDL₃, com forma esférica e madura. A HDL₃ é o substrato da LCAT, sintetizada e secretada pelo fígado e que circula em associação com a HDL. A LCAT é ativada pelas apo A-I, A-IV, E e C-I e esterifica o colesterol recebido pela pré-HDL. A LCAT, ativada pela apo A-I presente na lipoproteína HDL, esterifica o colesterol da HDL₃ por meio de uma transferência de um ácido graxo da posição-2 do fosfolípide (lecitina) para o grupo hidroxila da molécula de colesterol (LEWIS & RADER, 2005).

2.2.1 Estrutura da HDL

A estrutura da HDL (Figura 3) é formada por um núcleo lipídico hidrofóbico cingido por uma camada monofásica de fosfolípides, apolipoproteínas (principalmente apo A-I e apo A-II) e colesterol não esterificado, e em seu interior há uma pequena porção de triacilgliceróis, colesterol não esterificado e predominância de ésteres de colesterol (LIMA & COUTO, 2006).

A apolipoproteína A-1 promove três vias de formação de HDL:

1) A apo A-1 capta colesterol livre e fosfolípidos das células periféricas formando pré-beta HDL. As LCAT esterificam o colesterol livre e formam a alfa HDL, maduras, de estrutura esférica e rica em colesterol esterificado. A LCAT também transforma a HDL madura em HDL₃, mais densa e mais rica em colesterol esterificado. Em seguida, a proteína transportadora de fosfolípidos (PLTP) atua sobre estas partículas para que ocorra a formação de HDL₂ rica em fosfolípidos e menos densa. Na parede arterial e no plasma existe interconversão entre HDL₂ e HDL₃ (Figura 4): PLTP e LCAT participam da conversão de HDL₃ para HDL₂; lipase hepática e CETP atuam na conversão de HDL₂ para HDL₃ (FORTI & DIAMENT, 2006).

2) Fígado e intestino secretam partículas discóides formadas por apo A-1, fosfolípidos e colesterol livre, que se transformam em HDL maduras por ação da LCAT (FORTI & DIAMENT, 2006);

3) Lipase lipoproteica (LLP) atua sobre as lipoproteínas ricas em triglicérides, que liberam fragmentos compostos por fosfolípidos, colesterol livre e pequenas apoproteínas que vão para o *pool* de HDL (FORTI & DIAMENT, 2006).

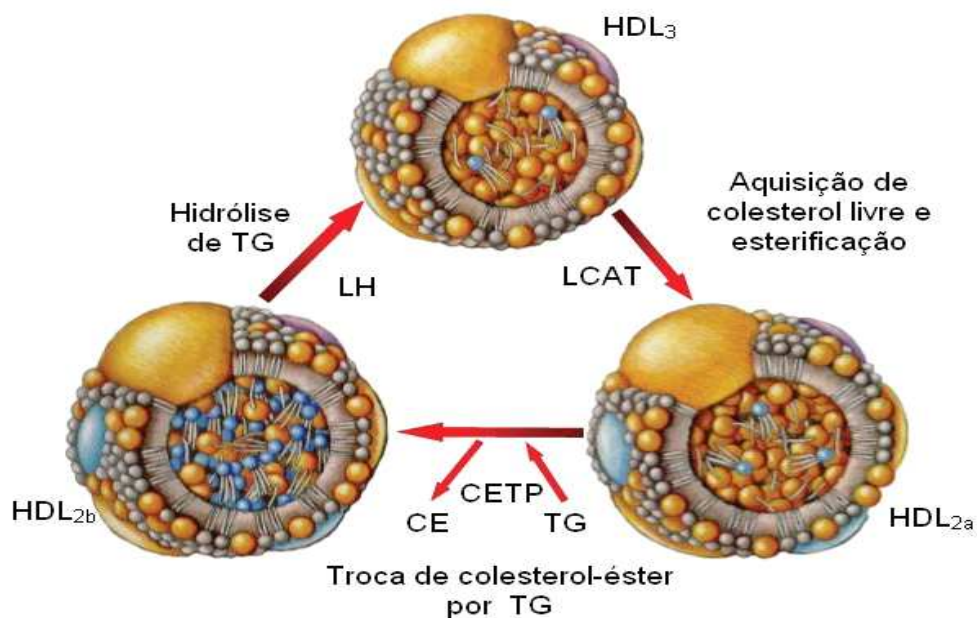


Figura 4: Interconversão das subclasses HDL₂ e HDL₃. HDL - lipoproteína de alta densidade; TG - triglicérides; LH - lipase hepática; LCAT - lecitina colesterol aciltransferase; CETP - proteína de transferência do colesterol esterificado; CE - colesterol esterificado.

Fonte: Forti & Diament, 2006.

A HDL pode ser dividida em subclasses a depender do seu conteúdo de lipídios, proteínas e do seu tamanho: HDL₁, HDL₂, HDL₃ e HDL₄. Contudo, foi demonstrado que quando separadas por ultra-centrifugação, as classes de maior concentração no plasma são as HDL₂ e HDL₃ (CHAPMAN et al, 1981).

Depois de formadas, as HDL são captadas pelos receptores SRB1 hepáticos e pelos receptores de apo E, que fazem remoção seletiva de colesterol esterificado no fígado. A bile secreta colesterol hepático mediado pelos transportadores ABCG5 e ABCG8. A CETP, através da regulação pela SREBP e LXR/RXR (receptores nucleares hepáticos e retinóides), media a troca de colesterol do HDL com as triglicérides das VLDL, IDL e LDL, deixando a HDL mais rica em triglicérides; os receptores hepáticos B/E captam o colesterol ligado às VLDL, IDL e LDL.

2.2.2 Função da HDL

Um papel relacionado à HDL que tem grande importância é o transporte reverso de colesterol (TRC). O TRC é realizado por um conjunto de partículas efetoras como apoproteínas, lipídios, proteínas de transferência, enzimas, entre outras, associadas ou não à HDL e suas subclasses. Este se caracteriza pelo transporte de ésteres de colesterol dos tecidos periféricos para o fígado por via plasmática (Figura 5), podendo também haver sua reciclagem ou excreção na bile, ou auxiliar na produção de hormônios, atribuindo ao HDL propriedade antiaterogênica (LIMA & COUTO, 2006; FORTI & DIAMENT, 2006).

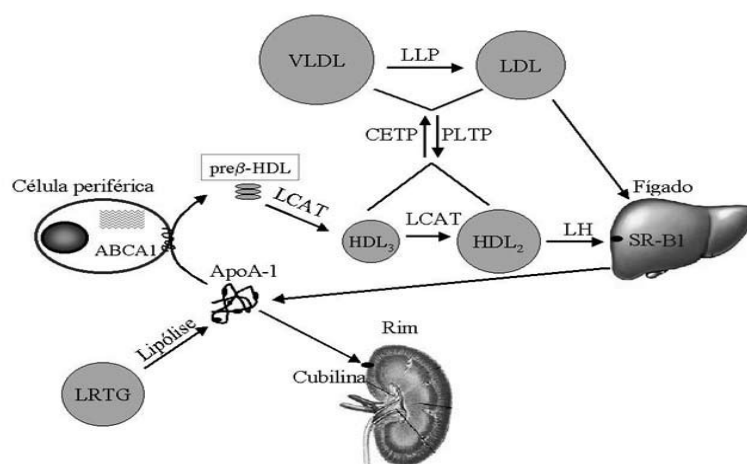


Figura 5: Principais vias do transporte reverso de colesterol e metabolismo da HDL.

Fonte: LIMA & COUTO, 2006.

A função antiaterogênica é a mais relatada, pois esta promove o efluxo de colesterol das células, graças à ação da apo A-1. O efluxo de colesterol dos macrófagos vasculares promove com outros tecidos periféricos a transferência de éster de colesterol plasmático ou receptores hepáticos. Este efluxo pode ocorrer por vários mecanismos, inclusive difusão passiva do colesterol livre dos macrófagos com subsequente esterificação por LCAT associado à HDL; transporte de colesterol do HDL por varredura do receptor SRB-I. Além desta, confere-se ao HDL as seguintes propriedades relatadas em diversos estudos e também atuantes na anti aterogênese: proteção do endotélio, pró-fibrinólise, antiinflamatória, antioxidante, mediação do efluxo de colesterol, inibidora de expressão de moléculas de adesão celular, indutora de produção de NO, ativadora de leucócitos e também responsável pela regulação da atividade plaquetária e da coagulação sanguínea, (LIMA & COUTO, 2006; FORTI & DIAMENT, 2006).

Estudos realizados no PROCAM (*Prospective Cardiovascular Munster Study*) e no *Copenhagen City Heart Study* constataram que em pacientes hipertrigliceridêmicos nem sempre a HDL atua com propriedade anti aterosclerótica e, nesse caso, existe a associação ao grande risco cardiovascular (FORTI & DIAMENT, 2006).

A proteção do endotélio concernente a uma das funções da HDL obedece às seguintes etapas: a infiltração das LDL oxidadas (modificada) é inibida, o que reprime a vasodilatação mediada por acetilcolina, e o antagonismo da inibição da vasodilatação é consequente da ação da lisofosfatidilcolina; a adesão de monócitos ao endotélio é impedida através da inibição das moléculas de adesão (VCAM1, ICAM1 e E-selectina) na superfície do endotélio. A HDL₂ bloqueia totalmente a adesão de monócitos junto às células do endotélio; as células endoteliais produzem menor quantidade de endotelina-1; há estímulo de produção de prostaciclina e o aumento da meia vida, o que melhora o relaxamento vascular; ocorre vasodilatação por modulação da produção de peptídeo natriurético C; ativação da sintetase de óxido nítrico endotelial, liberando óxido nítrico para o meio; estímulo da produção de células musculares lisas, que podem ter a função de reparar o tecido vascular após a ruptura da capa fibrosa das lesões ateroscleróticas e, por fim, a ativação do sistema complemento, o que previne contra o dano celular e contra a necrose tecidual (FORTI & DIAMENT, 2006).

2.2.3 Aspectos Clínicos

Um dos parâmetros para avaliação do risco cardiovascular se atribui à dosagem do colesterol total e de suas frações, inclusive do colesterol da HDL (Tabela 1). Esta fração

é considerada “bom colesterol” por ter função antiaterogênica, prevenindo contra complicações cardiovasculares, tais como infarto agudo do miocárdio, angina *pectoris*, acidente vascular cerebral, desde que em níveis plasmáticos normais - acima de 40mg/dl (FUJISAWA et al, 2008). A baixa nos níveis de HDL circulante pode ser observada em caso de síndrome metabólica, onde há relação entre intolerância à glicose, resistência à insulina e hipertensão arterial sistêmica, promovendo desse modo, um fator de risco para DAC (LIMA & COUTO, 2006).

Tabela 1: Valores de referência dos lípides para indivíduos maiores de 20 anos de idade		
LÍPIDIOS	VALORES (mg/dl)	CATEGORIA
COLESTEROL TOTAL	< 200	Ótimo
	200-239	Limítrofe
	>240	Alto
HDL-C	<40	Baixo
	>60	Alto
	<100	Ótimo
LDL-C	100-129	Desejável
	130-159	Limítrofe
	160-189	Alto
	>190	Muito alto
TRIGLICÉRIDES	<150	Ótimo
	150-200	Limítrofe
	201-499	Alto
	>500	Muito alto

Fonte (com adaptação): III DBSD/DPA (2001).

O aumento do risco cardiovascular, de acordo com a literatura médica, ocorre em caso de dislipidemia, onde pode ser observada baixa de HDL-C com alta de LDL-C, constatando-se a relação inversa entre níveis mais altos de HDL-C e risco de isquemias e eventos cardiovasculares (FUJISAWA et al, 2008). Observa-se que baixos níveis plasmáticos de HDL-C também se associam com altos níveis de VLDL-C e LDL-C (LIMA & COUTO, 2006). Portanto, procedimentos clínicos são adotados com o objetivo de elevar em níveis regulares a concentração plasmática de HDL-C com redução dos níveis plasmáticos de LDL-C, a fim de evitar isquemias e eventos cardiovasculares nos pacientes (FUJISAWA et al, 2008).

Diversos fatores podem causar a redução nos níveis plasmáticos de HDL-C, entre estes se incluem o sedentarismo, obesidade, tabagismo, insuficiência renal crônica, diabetes *mellitus* e alta concentração sérica de triglicérides, que também se associam à baixa de HDL-C. Também uma dieta muito pobre em gorduras e o uso de medicamentos dos tipos tiazidas, hormônios progesterônicos e androgênicos, diuréticos ou beta-bloqueadores podem baixar o HDL-C. Provavelmente, a síndrome metabólica envolvendo a obesidade visceral e a resistência à insulina seja o maior causador da baixa de HDL-C e, de certa forma, o HDL-C em baixos níveis é um marcador de presença de fatores de risco cardiovasculares (RADER, 2002).

Fatores de risco como obesidade, tabagismo, hipertrigliceridemia e síndrome metabólica são vinculados aos baixos níveis de HDL predisponentes ao comprometimento das artérias coronárias (FORTI & DIAMENT, 2006). O aumento do índice de massa corporal relacionado ao sobrepeso ou à obesidade e também à síndrome metabólica (HAS, intolerância à glicose, DM e dislipidemias) é considerado um fator de risco para DAC (ARAÚJO et al, 2007).

A lipoproteína de alta densidade atua como transportador das seguintes proteínas relacionadas com o metabolismo de lipídios, participantes das suas vias metabólicas: proteína transportadora de éster de colesterol (CETP), proteína transportadora de fosfolipídios (PLTP) e lecitina colesterol acil-transferase (LCAT) (LIMA & COUTO, 2006). Descobriu-se também que uma deficiência de CETP causada por um fator genético eleva significativamente os níveis plasmáticos de HDL-C em humanos e, em seguida, constatou-se que a inibição farmacológica do CETP, leva ao mesmo resultado. Contudo, a mortalidade em larga escala (60%) num grupo tratado com um inibidor de CETP em 2006, fez com que este conceito fosse desconsiderado (RADER & CUCHEL, 2007).

A HDL-C se origina no plasma e no compartimento extravascular (Figura 6). O fígado secreta apo A-I e apo A-II ao mesmo tempo em que o intestino secreta apo A-I (FORTI & DIAMENT, 2006); ocorre geração de oxisteróis ligantes endógenos dos receptores nucleares hepáticos (LXR) e retinóides (RXR) pelo colesterol livre das células periféricas, e que são influenciados pelos receptores ativados do proliferador do peroxissoma (PPARs) alfa e gama. A proteína reguladora de colesterol (SREBP) e os LXR/RXR regulam a transcrição do gene transportador de colesterol ABCA1 da superfície dos macrófagos da parede arterial (FORTI & DIAMENT, 2006).

O ABCA1 estimula a saída do colesterol livre celular e este é captado pela proteína de transferência de fosfolípide. Também há promoção do efluxo de colesterol pelos ABCG1 dos

macrófagos e células endoteliais e ABCG4 das células cerebrais (FORTI & DIAMENT, 2006).

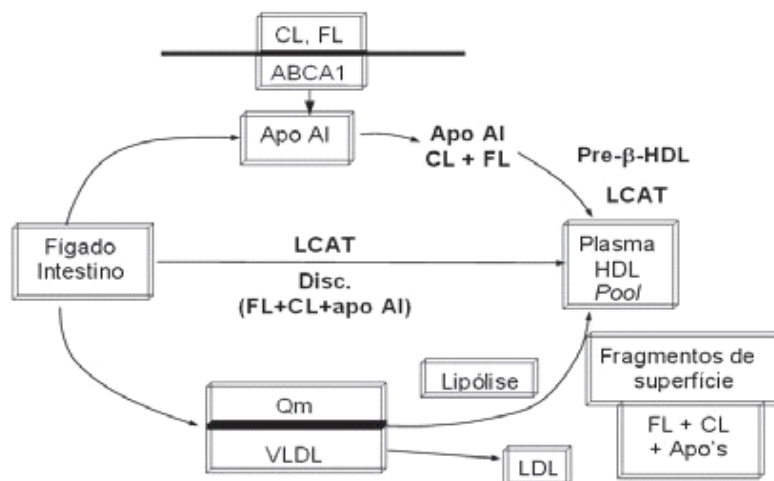


Figura 6: Formação da HDL: participação da apolipoproteína A-I. CL- colesterol livre; FL- fosfolípide; ABCA1- transportador ABCA1; Apo- apoproteína; HDL- lipoproteína de alta densidade; LCAT- lecitina colesterol aciltransferase; Disc. - partícula discóide; Qm - quilomícron; VLDL - lipoproteína de muito baixa densidade; LDL - lipoproteína de baixa densidade.

Fonte: FORTI & DIAMENT, 2006.

2.2.4. Relação HDL e Paraoxonase (PON)

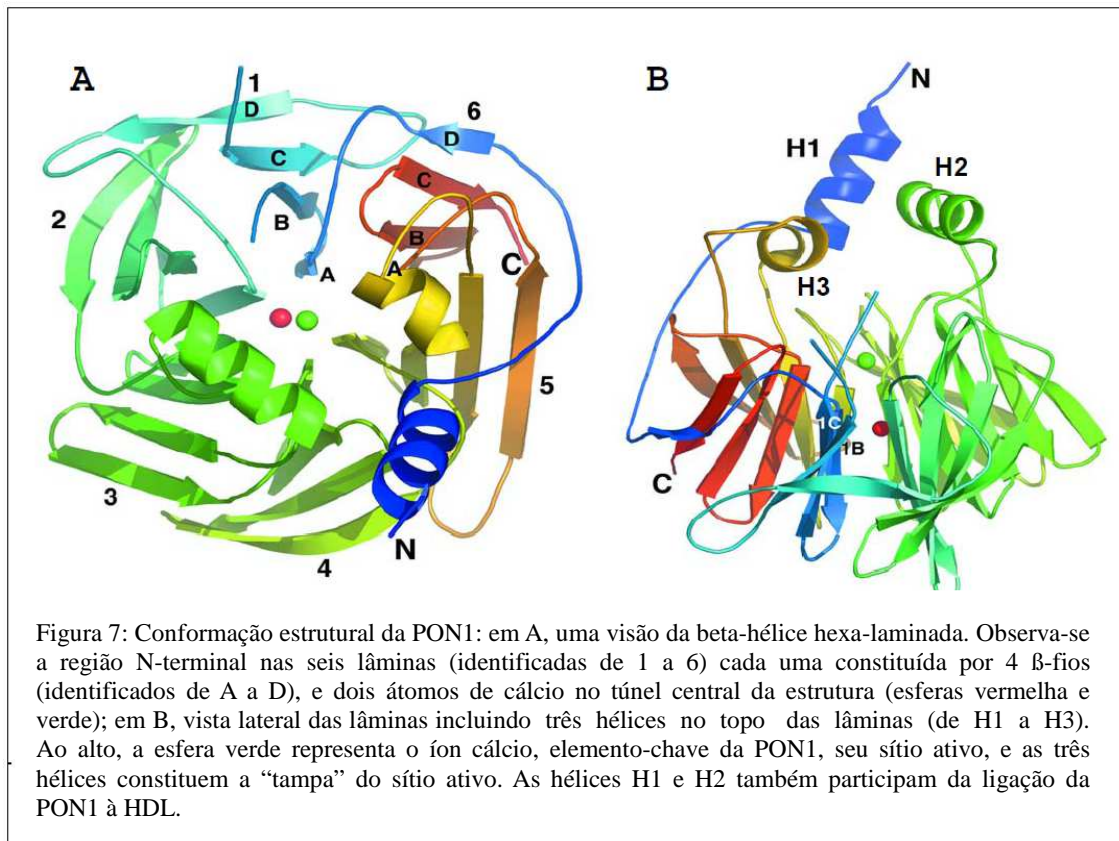
Em 1961 Uriel detectou a PON em imunoprecipitados de HDL ao realizar testes de eletroforese em soro humano. A PON contida nas partículas de HDL é capaz de hidrolisar lipoperóxidos, acelerando quebra de fosfolípidios oxidados na LDL, os quais estimulam a produção de citocinas e induzem a adesão de monócitos na superfície de células endoteliais. Além disso, reduz os produtos de oxidação da LDL (lipoperóxidos e lisofosfatidilcolina) em artérias coronárias humanas e lesões da carótida (LIMA & COUTO, 2006; FORTI & DIAMENT, 2006).

A região N-terminal da PON fixa a HDL por ser exacerbadamente hidrofóbica (ADKINS et al, 1993), mas não se evidencia a sua ligação com LDL e VLDL, o que sugere uma ligação específica entre PON e HDL, provavelmente por esta conter apo A-I (BLATTER et al, 1993). Outrossim, em camundongos, pode-se observar o aumento da atividade da PON quando nestes animais se expressou apo A-I humana (LIMA &

COUTO, 2006). Por outro lado, verificou-se a diminuição da atividade da PON em pacientes diabéticos com altos níveis de hemoglobina glicada do mesmo modo que em animais induzidos a uma dieta aterogênica, ou naqueles com altos níveis de marcadores de oxidação e deficiência de apo-E e receptores de LDL. A PON1 é uma enzima que, associada às HDL, torna-se capaz de hidrolisar peróxidos lipídicos nas LDL (partículas com propriedades pró-aterogênica e pró-inflamatória) podendo conferir proteção contra aterosclerose (AVIRAM et al, 1998).

2.3 Paraoxonase (PON)

De acordo com estudos realizados, o paraoxon é um dos substratos da enzima paraoxonase, responsável por reduzir a conversão de peróxidos lipídicos no processo de oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (COSTA, 2003). Contudo, pode-se citar que a paraoxonase possivelmente seja um marcador para eventos cardiovasculares (KELSO et al, 1994). A estrutura da paraoxonase pode ser observada na Figura 7. A paraoxonase 1 (PON 1) é uma composição protéica de 354 aminoácidos com massa molecular de 43 kDa. No soro, a PON possui sítio exclusivo na HDL de mamíferos, não sendo encontrada em pássaros, artrópodes, invertebrados (ADKINS et al, 1993).



Fonte: Aharoni, & Tawfik 2009.

2.3.1 PON1 e aterosclerose

A PON1 sérica humana tem sua atividade inversamente proporcional ao risco de doenças cardiovasculares (MACKNESS et al, 2003), podendo-se observar a baixa atividade da PON1 em pacientes ateroscleróticos, hipercolesterolêmicos e diabéticos (ROSENBLAT et al, 2004).

Testes de atividade da PON1 em ratos portadores de aterosclerose também mostraram a redução de atividade desta enzima quando estes têm deficiência de apolipoproteína E (AVIRAM, 1998); o que pode ser constatado também nos testes feitos em coelhos que foram induzidos a dieta pró-aterogênica (MACKNESS et al, 2000).

A maioria dos estudos defendem que os polimorfismos da PON1 estejam ligados ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares propondo-se que a atividade desta enzima e sua concentração plasmática sejam indicadores de predisposição às doenças cardiovasculares (MACKNESS et al, 2001).

2.4 Aterosclerose

Aterosclerose se caracteriza por endurecimento das artérias, especificamente com formação de placas gordurosas ou placas de ateroma, ricas em colesterol, localizada na túnica íntima/média das artérias (WISSLER, 1987), que ocorre cronicamente em sítios específicos nos leitos das artérias coronárias, renais, mesentéricas, artérias periféricas, aorta abdominal e torácica (MANSUR et al, 2003).

A aterosclerose se inicia precocemente e tem associação entre interação de fatores ambientais, a predisposição genética dos indivíduos, a hemodinâmica arterial local e o estilo de vida (LLOYD-JONES et al, 2004). Observou-se a presença de estrias gordurosas, lesões iniciais da aterosclerose, bem como lesões fibróticas mais avançadas em: crianças, adolescentes, adultos jovens – estudos baseados em necrópsia – homens ou mulheres, negros ou brancos, com faixa etária média abaixo dos 30 anos, sem apresentar sintomas (BERENSON et al, 1998). Da Luz (2005) afirma que a aterosclerose em humanos se desenvolve precoce e silenciosamente e o grau de envolvimento entre aterosclerose na aorta e nas artérias coronárias está diretamente relacionado à presença de fatores de risco clássicos. Moura (1997) concluiu que a progressão da doença vai desde a infância e os sintomas surgem a partir da meia-idade ou posteriormente, quando as lesões arteriais precipitam lesão orgânica.

Hipertensão arterial sistêmica, dislipidemias, obesidade, sedentarismo, tabagismo e diabetes mellitus são reconhecidos como fatores de risco para o surgimento da aterosclerose. A evolução da doença e suas complicações são evidenciadas com mais frequência em homens, mulheres que já passaram pela menopausa, idosos ou pessoas com histórico familiar de doença arterial coronária (LOPEZ et al, 2006).

2.4.1 Patologia da aterosclerose

2.4.1.1 Endotélio

Antes considerada apenas como uma barreira impermeável, a camada celular que reveste a camada íntima, o endotélio (Figura 8), é o responsável pelo suprimento de sangue nos tecidos.

A hipercolesterolemia compromete a função do endotélio, sendo considerado um precursor da aterogênese, acarretando eventos coronários e/ou morte por doença vascular. A disfunção endotelial por hipercolesterolemia seria provocada por dois principais mecanismos: a) elevação plasmática das LDL e b) peroxidação de ácidos graxos de triglicérides e fosfolípidos das LDL na região íntima do endotélio (JORGE, 1997).

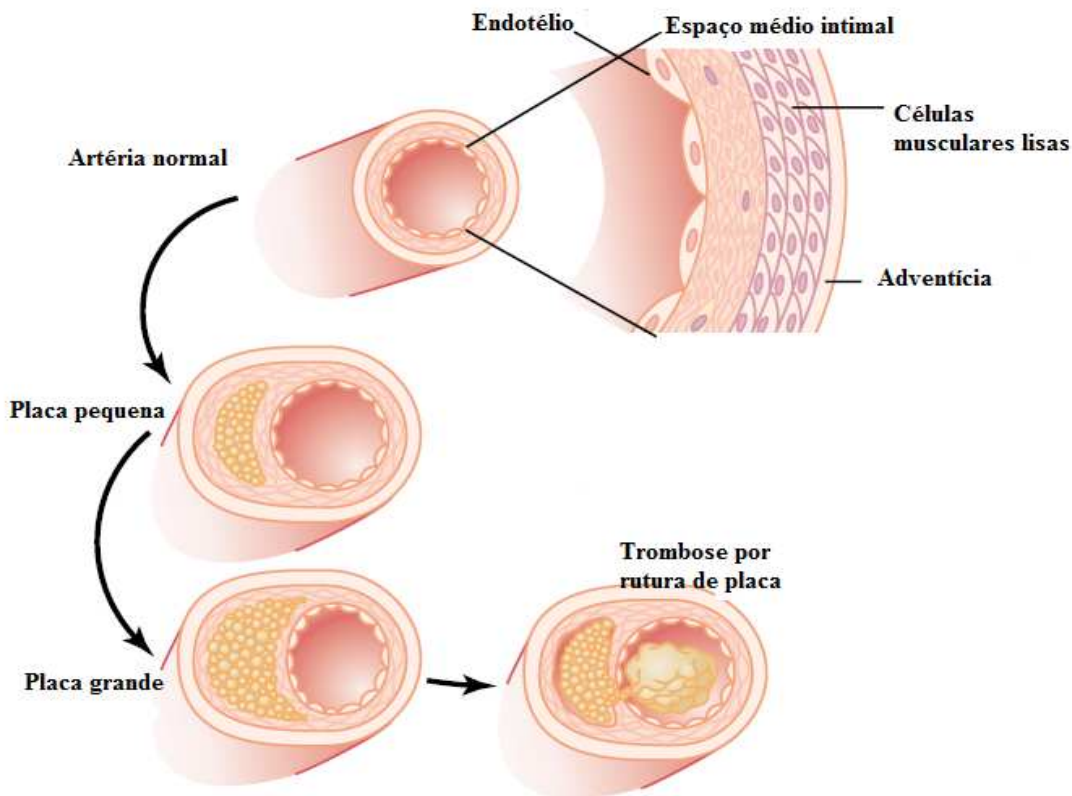


Figura 8: O endotélio e a evolução da placa aterosclerótica

Fonte: Guyton & Hall, 2006.

As LDL seriam carregadas para o interior da célula endotelial por receptores específicos presentes nas invaginações da parede do endotélio, então, haveria englobamento das LDL pelos lisossomos e hidrólise das partículas em triglicérides, proteínas, colesterol, etc. No caso de hipercolesterolemia com aumento das LDL, que são carreadoras de colesterol plasmático, haveria aumento da endocitose pelos receptores específicos e endocitose pelos receptores inespecíficos, aumentando a concentração das LDL nativas na túnica íntima/média, aumentando também o consumo de NO, o que acentuaria a produção de radicais livres, levando à peroxidação dos ácidos graxos das LDL e à oxidação das apo B (JORGE, 1997).

A disfunção endotelial, desencadeada pela diminuição da resposta vasodilatadora ou resposta vasoconstrictora por ação da acetilcolina (HIMBERGEN et al, 2005), concederia o maior efluxo de LDL nativa e de LDL oxidada para a região intimal, fomentando o processo de transcitose. Haveria oxidação das LDL nativas da íntima, aumentando a concentração

das LDL oxidadas nesta região, o que induziria a migração de monócitos, dando formação às células espumosas (JORGE, 1997).

2.4.2 Aterogênese

Alterações estruturais e funcionais do endotélio, bem como perda do equilíbrio entre as substâncias pró-trombóticas e pró-fibrinolíticas são características do estágio inicial da aterosclerose. Pode-se dizer seguramente que a aterogênese está ligada em consequência ao depósito de lipoproteínas de baixa densidade oxidadas nas paredes dos vasos (MANSUR et al, 2003). A figura 9 mostra secção transversal de uma artéria de corpo humano com depósito de gordura no subendotélio, caracterizando placa aterosclerótica (*University of Pennsylvania School of Medicine*).



Figura 9: Secção transversal de uma artéria de corpo humano, com depósito de gordura subendotelial (placa).

Fonte: <http://www.uphs.upenn.edu>

A hipercolesterolemia com aumento das LDL, responsável pelo transporte plasmático de colesterol, dá origem à formação de radicais livres na região íntima dos vasos e seria a responsável pela oxidação das LDL por substâncias quimioattractantes, induzindo a migração de monócitos, a fagocitose destas partículas e formação de células espumosas, aumentando a concentração de LDL no interior das células endoteliais (JORGE, 1997).

As funções fisiológicas das células endoteliais permitem que a parede vascular permaneça íntegra, o que não proporciona a adesão de leucócitos e plaquetas evitando a trombogênese, concomitantemente mantém o tônus vascular (DA LUZ & FAVARATO, 2005).

A formação da placa aterosclerótica ocorre num processo dinâmico onde se identificaram inúmeros mediadores inflamatórios diretamente relacionados com a instalação, progressão e instabilização da placa de ateroma (BERENSON et al, 1998), tendo uma sequência específica que se inicia com a disfunção do endotélio, diapedese de linfócitos T, monócitos e LDL modificada no subendotélio. Ocorre uma reação inflamatória local provocada pela retenção LDL modificada, seguido de migração e resposta celular (linfócitos, monócitos, macrófagos, células musculares lisas e fibroblastos), com síntese de matriz extracelular, lesão na estrutura da endotelial, ocorrendo trombose por deposição de plaquetas (DA LUZ & FAVARATO, 2005).

As partículas de LDL que antes de sofrer oxidação (modificação) atravessam facilmente o endotélio, após sofrer oxidação em suas partículas têm maior dificuldade de retornar à circulação, ficando retidas no subendotélio (DA LUZ & FAVARATO, 2005).

Os receptores acetilados (que não sofrem regulação pelo colesterol intracelular) e o CD-36 da superfície dos macrófagos passam a reconhecer a partícula oxidada. Os macrófagos são monócitos diferenciados que também penetraram na região subendotelial através de um fator quimiotático (MCP-1, proteína-1 quimiotática de monócitos) juntamente com a LDL, e que incorporam grande quantidade de partículas LDLox (que age na produção de MCP-1 e IL-1) tornando-se ricos em lipídios, para formar-se inicialmente as células espumosas originando a lesão aterosclerótica com estria gordurosa. Além de atuar na migração de monócitos, atrai linfócitos T para o subendotélio. Outro fator quimiotático, o M-CSF (fator estimulante de colônias de macrófagos), é o responsável pela diferenciação de monócitos em macrófagos e a proliferação destes. A LDLox (que estimula a produção de MCP-1 e IL-1) causa lesão estrutural no endotélio devido à sua ação tóxica e retém os monócitos na região subendotelial (BERENSON et al, 1998; DA LUZ et al, 2003).

Bifurcações arteriais, onde há turbulência no fluxo laminar sanguíneo, são os sítios de predomínio de lesões iniciais, interferindo nas características normais do endotélio e no “shear stress”, diminuindo a produção de óxido nítrico na parede vascular, associado ao aumento de moléculas de adesão intracelular (ICAM-1), moléculas de adesão das células vasculares (VCAM-1), P-selectina, E-selectina, são estimuladores da deposição de macrófagos sobre o endotélio posterior penetração no subendotélio e expressão da proteína-

1 quimiotática de monócitos. O óxido nítrico é o principal produto atuante na vasodilatação e tem função protetora contra inflamação, trombose e lesão vascular (DA LUZ et al, 2003).

Moléculas de adesão expressadas nas células circulantes e no endotélio, dos tipos VCAM-1, ICAM-1, E-selectina, também denominada de molécula de adesão da fase aguda, e ELAM-1 (moléculas de adesão endotelial de leucócitos) são mediadoras da deposição de leucócitos sobre o endotélio e posterior penetração destas células no subendotélio. Interleucinas tipo 1 β (IL-1 β), 4 (IL-4), 6 (IL-6), interleucina 18 (IL-18), angiotensina II são pequenas concentrações de citocinas sintetizadas pelo endotélio arterial que induzem a expressão de moléculas de adesão e que, quando ocorre disfunção do endotélio, causa o aumento das concentrações das citocinas. Em consequência, o endotélio se encarrega de agregar e aderir monócitos para sua superfície (ROSS, 1999) .

A proliferação de célula muscular lisa vascular (CMLV) que migram da camada média da artéria para o endotélio, também é um fator importante, pois estas passam a produzir fatores de crescimento, citocinas e matriz extracelular composta por colágeno e proteoglicanos. A erosão da placa de ateroma é um evento tardio que a LDLox também participa, formando microtrombos plaquetários e fatores de crescimento derivados de plaquetas (PDGF), possibilitando lesões extensas no endotélio. O que determina o grau de proliferação celular, a secreção de matriz extracelular e a extensão da placa madura é justamente a interação entre as plaquetas, o endotélio, as CMLV e os macrófagos (DAVIS et al, 1995).

Ao mesmo tempo, ocorre apoptose dos macrófagos infiltrados nas paredes dos vasos, as células musculares lisas vasculares migram para a área lesada, há deposição de colágeno para recobrir a região necrosada, e, desse modo, mais substâncias são liberadas, o que acarreta na exacerbação do processo inflamatório, para finalmente se formar a placa ateroma (Figura 10). O desenvolvimento da placa de ateroma pode ser assintomático e progressivo, podendo a sua formação durar décadas. Esta placa pode se romper (ainda não se sabe exatamente o que provoca esta ruptura) e o produto do interior da placa se expõe à corrente sanguínea, podendo aumentar a expressão de fatores pró-coagulantes. Como resultado, há formação de trombos intravasculares no local, oclusão dos vasos e isquemia, lesão na qual a gravidade vai depender do calibre e qual região do vaso que foi afetada (HANSON & LIBBY, 2006).

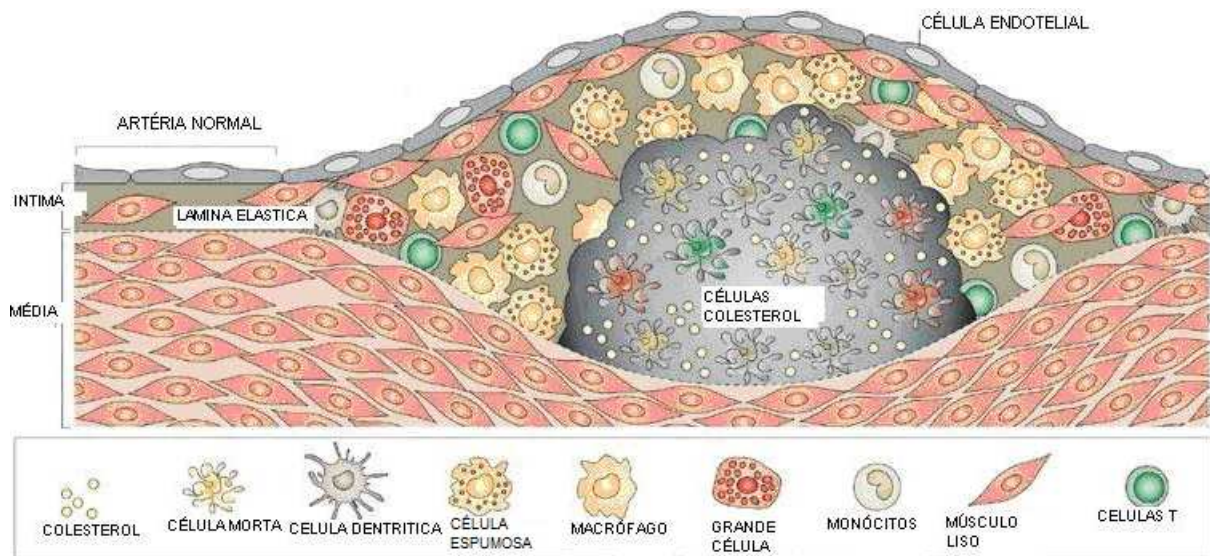


Figura 10: Elementos da placa aterosclerótica

Fonte: Hanson & Libby (2006)

A progressão da aterosclerose, partindo da formação de estria gordurosa até a formação da placa fibrosa, é muito lenta e, por longo período de tempo, esta não atinge significativamente a luz arterial, o que faz permanecer normal o fluxo sanguíneo. A lesão aterosclerótica avançada depende da infiltração de monócitos e macrófagos, da produção de matriz extracelular e da proliferação de células musculares lisas vasculares, para se mensurar a complexidade destas lesões a partir das estrias gordurosas. Ainda que sofra lesão, o endotélio tem capacidade regenerativa, o que impede eventuais ocorrências cardiovasculares consequentes de hipertensão arterial súbita, tabagismo, etc. (GENG & LIBBY, 2002).

A evolução da placa de ateroma ocorre gradualmente. Fatores de coagulação como trombina e o PDGF podem desencadear pequenas rupturas da placa em formação, produzindo surtos proliferativos nas diferentes etapas de progressão da aterosclerose. Todavia, não ocorre proliferação celular, mas apoptose (possibilitando a limitação do crescimento da placa e da íntima), resultando em perda celular, amadurecendo a placa que tem em sua composição núcleo lipídico hipocelular, rico em lípidos extracelulares (cristais e ésteres de colesterol), capa fibrosa, com composição básica de células musculares lisas, matriz extracelular e células inflamatórias. O núcleo lipídico é pouco denso e altamente trombogênico. A capa fibrosa é encontrada predominante em aproximadamente 70% da extensão da placa. A matriz extracelular é regulada por citocinas e fatores de crescimento e composta por colágeno, elastina, proteoglicanos e microfibrilas proteicas (GENG & LIBBY, 2002).

As lesões ateroscleróticas obedecem ao seguinte critério de evolução (STARY et al, 1995):

Lesão Tipo I: há o aumento do número de macrófagos e aparecimento de células espumosas isoladas e esparsas (predominantes em lactentes);

Lesão Tipo II: predominante em adolescentes é a primeira lesão visível, denominada de estria gordurosa, com aspecto heterogêneo e tamanho mínimo. Estas surgem em camadas de células espumosas e gotas de gordura dentro das células musculares lisas e no espaço extracelular. Ainda podem se classificar em Lesão tipo IIa (com maior tendência à progressão), no caso de haver maior espessamento da íntima ou IIb, caso seja mais delgada;

Lesão tipo III: é semelhante à lesão Tipo II, salvo por haver coleções de lipídios extracelulares (considerada como lesão intermediária);

Lesão Tipo IV: necrose de células espumosas, que confluem para formar grande e densa coleção lipídica (que se identifica como núcleo lipídico), são coleções extracelulares com classificação. Com esta lesão pode haver remodelamento positivo, isto é, se medido a partir da adventícia, o diâmetro total do vaso pode ser aumentado, portanto, o núcleo lipídico geralmente não está associado ao estreitamento da luz do vaso;

Lesão Tipo V: há formação de cápsula fibrosa, que, de acordo com a abundância do núcleo lipídico, pode se classificar em: Va (fibroateroma), com um ou mais núcleos de lipídios; Vb (se calcificado); Vc, se o volume do núcleo lipídico for mínimo ou ausente;

As síndromes isquêmicas agudas correspondem às Lesões Tipo VI (placa complicada), lesões avançadas as quais são propensas a complicações consequentes de erosão, ruptura, hemorragia ou trombose intraplaca. Denominadas Lesões Tipo VIa, erosiva, pela ruptura da superfície; Tipo VIb, se por hemorragia ou hematoma; Tipo VIc, por trombose; Tipo VIabc, se presentes ruptura, hemorragia e trombose (Figura 11).

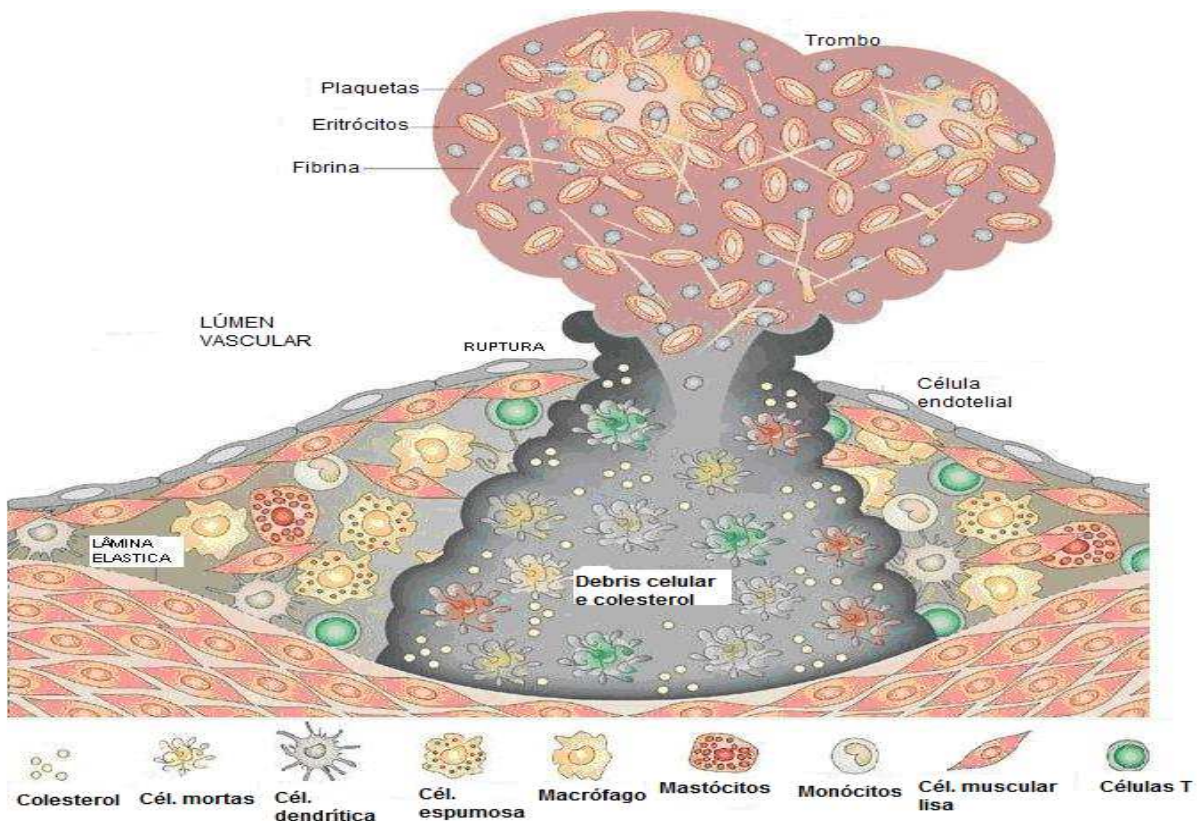


Figura 11: Ruptura da placa , hemorragia e formação de trombo

Fonte: Hanson & Libby, 2006.

2.4.3 Placas estáveis e instáveis

Uma vez que rompe a placa, há formação de trombo adjacente após a exposição de lipídios (com alta atividade trombogênica) desta composição, num processo conhecido por aterotrombose. Podem-se considerar dois tipos de formação de placa: placa estável e placa instável e, o que determina a sua ruptura, é a sua distinta característica morfológica, independente do grau de estenose vascular ou de seu tamanho (III DBSD/DPA, 2001)

A placa estável, com estenose fixa, tem como característica maior deposição de colágeno em sua composição e células musculares lisas, o que forma uma espessa capa fibrosa, com escassez de células inflamatórias e menor proeminência de gordura. Esta é menos propensa às isquemias agudas e se associa à angina estável crônica (LOPEZ et al, 2006).

A placa aterosclerótica instável, também denominada vulnerável, caracteriza-se por possuir capa fibrosa tênue rica em colágeno e núcleo lipídico rico em colesterol. Com

intensa atividade inflamatória e proteolítica, principalmente em suas bordas, faz sítio de transição com a parede vascular normal, onde há maior propensão à ruptura da placa. Desencadeia, por consequência à ruptura, infarto agudo do miocárdio e angina instável (síndromes coronárias agudas), acidentes vasculares cerebrais e isquemias transitórias nas carótidas e ramos decorrentes da formação de trombo sobrejacente por exposição de material lipídico com alta atividade trombogênica (LOPEZ et al, 2006)

2.4.4 Fatores de risco

Fatores de risco que são consideráveis para aterosclerose incluem: história familiar de doença arterial coronária, diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemias, obesidade, tabagismo, sedentarismo, alcoolismo e antecedente de acidente vascular cerebral. Idosos, mulheres após a menopausa e indivíduos com histórico familiar de doença coronária são mais propensos a desenvolver complicações decorrentes da doença aterosclerótica (LOPEZ et al, 2006; LLOYD-JONES et al, 2004).

No histórico familiar, parentes de primeiro grau com eventos de angina pectoris, infarto agudo e/ou cirurgia de revascularização do miocárdio são caracterizados como DAC precoce se em homens com idade abaixo de 55 anos e mulheres com idade abaixo de 65 anos (STEIN et al, 2007).

O diagnóstico de pressão arterial com valores acima de 130 mmHg para sístole e acima de 85 mmHg para diástole, são considerados pela IV Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial de 2004, como hipertensão arterial sistêmica (CONROY et al, 2003).

São considerados dislipidêmicos aqueles pacientes com alterações no metabolismo das partículas compostas por lipídios e proteínas circulantes, responsáveis pelo transporte de lípidos plasmáticos, com dados acima dos valores normais e que fazem uso de fibrato ou estatinas, segundo a IV Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Prevenção de Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2007); ressaltam-se como valores de referência: Colesterol total < 200 mg/dl; LDL-C < 130 mg/dl ; HDL-C >40 mg/dl em homens e maior que 50 mg/dl em mulheres; Triglicérides (TG) <150 mg/dl. Para obesidade, os critérios obedecidos relacionam o índice de massa corporal (IMC) e a circunferência abdominal. O IMC abaixo de 25 é considerado normal, acima deste valor, é anormal; quanto à circunferência abdominal, segundo os critérios adotados do NCEP III, os valores anormais para homens estão acima de 102 cm e para mulheres, acima de 88 cm (IV DBDPA, 2007).

Todo paciente que faz uso regular de cigarros (cinco ou mais por dia) é considerado tabagista ativo (POLANCZYK, 2005).

Quanto ao sedentarismo, a inatividade física é um dos principais fatores de risco para a aterosclerose e para a doença isquêmica das coronárias, de acordo com o II Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias (1996). Segundo o Questionário Internacional de Atividade Física - International Physical Activity Questionnaire (IPAQ, 2005), ativos são aqueles que praticam pelo menos 20 minutos de atividade física três vezes por semana. Ao realizar exercícios físicos, a atividade metabólica dos lipídios aumenta proporcionalmente, os níveis plasmáticos das HDL-C e causa redução nos triglicerídios e nas LDL-C, sem alterar o colesterol total.

A identificação de fatores de risco em possíveis portadores da doença de base, desde que sejam adaptadas medidas terapêuticas eficientes (DA LUZ et al, 2005) é o objetivo da prevenção primária. Fatores de risco clássicos não foram certificados em parte dos pacientes com doença coronariana documentada, levantando a hipótese de que a aterosclerose independe da presença destes fatores (KHOT et al, 2003). O que se pode ponderar é que haja a interação entre a aterosclerose com os fatores de risco, genéticos e ambientais.

2.4.5 Associação aterosclerose de carótida e coronária

O espessamento médio intimal carotídeo é uma alteração vascular precoce, que se origina a partir da disfunção do endotélio, e corresponde ao estágio inicial da aterosclerose. A resposta inflamatória decorrente desta disfunção é a responsável pela patogênese e instabilização da placa aterosclerótica e vai interferir tanto na doença aterosclerótica carotídea quanto em resultar insuficiência cardíaca e hipertensão arterial sistêmica (CHEQUER et al, 2006). O diagnóstico desta doença se dá facilmente através da ultrassonografia das artérias carótidas, que avalia o espessamento médio intimal (EMI) bem como a sua gravidade, correlacionando-o à aterosclerose coronariana (CROUSE et al, 1995). O EMI das carótidas também tem relação com a ocorrência de infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral isquêmico, com risco relativo entre 2 e 6 (ROTHWELL, 2000).

O acometimento da aterosclerose em múltiplos sítios é a causa da similaridade entre fatores de risco para aterosclerose em carótidas e aterosclerose coronariana. A idade também vai influenciar em ambos os sítios da aterosclerose e vai apresentar forte correlação entre idade e extensão de comprometimento carotídeo (CRAVEN et al, 1990). Estabeleceram-se distinções de influências dos fatores de risco aterosclerótico em ambas as artérias, porém com fator de maior efeito – hipertensão arterial sistêmica e fatores de menores efeitos – gênero

(WOLF et al, 1983) e colesterol em carótidas; no gênero feminino, durante a menacme, há menor incidência de aterosclerose em relação a indivíduos do sexo masculino da mesma faixa etária, decorrente da diferença de constituição hormonal destes (FARMER & GONO, 1992). A diminuição de produção de estrógenos em mulheres diminui de forma gradual os níveis de HDL-C e aumenta a concentração de LDL-C, caracterizando perfil aterogênico. No gênero masculino, por conta do aumento da produção de testosterona após a puberdade, há redução dos níveis de HDL-C (FARMER & GONO, 1992).

Há forte correlação entre aterosclerose em carótidas e coronárias, de acordo com estudos, principalmente em indivíduos com mais de 50 anos de idade (CRAVEN et al, 1990). Sendo assim, pacientes com angina *pectoris* ou infarto do miocárdio são mais propensos a desenvolverem isquemia cerebral, o que tem se registrado em 2% a 5% dos pacientes nas duas primeiras semanas após infarto do miocárdio (WEITZEL et al, 1993).

2.4.6 Diagnóstico e tratamento

A investigação para o diagnóstico e tratamento da aterosclerose tem como objetivo maior a prevenção secundária ou complicações, incluindo: angina, infarto agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca e morte súbita. Diagnose e tratamento atuam em conjunto através do diagnóstico por imagem, intervenções hemodinâmicas, cateterismo, cirurgia vascular miocárdica, implantação de marcapasso, e farmacoterapia para o controle das complicações. A prevenção do desenvolvimento da aterosclerose (que é considerada a doença de base) e suas eventuais consequências ainda é a melhor opção, para pacientes com risco potencial à ocorrência de um evento agudo (infarto agudo do miocárdio, por exemplo) e sequelas tipo disfunção ventricular e/ou insuficiência cardíaca. Vale ressaltar que a aterosclerose é uma doença que atinge vários territórios vasculares.

A prevenção secundária pelo uso de estatinas com objetivo de estabilidade e regressão da placa e redução de acidente vascular cerebral (AVC) e de eventos cardíacos tem sido registrada, em consequência das recidivas das manifestações em diferentes territórios vasculares, após determinado período, de acordo com o estudo de Framingham, variando entre 16% e 50% para homens e mulheres (KANNEL et al, 1979). É possível analisar todos os vasos periféricos e artérias carótidas, braquial, tibial posterior e pediosa, conjecturando-se os eventos da circulação coronariana, do mesmo modo que é mostrado pela função endotelial e espessura íntima-média da carótida (REMBOLD et al, 2003), e associando a doença arterial periférica medida pelo índice tornozelo-braquial num procedimento não invasivo fácil, e que representa baixo risco de morte para o paciente (NEWMAN et al, 1993).

Usualmente têm se utilizado o escore de Framingham (ANDERSON et al, 1990; WILSON et al, 1998) e o escore europeu de risco (CONROY et al, 2003) como métodos de avaliação de risco cardiovascular, pois ambos salientam a presença de fatores clássicos de risco, os achados em eletrocardiografias e os dados clínicos relativos. Considera-se que a utilização destes métodos serve para previsão de riscos e não a doença em si, mesmo porque, a presença dos fatores de risco num paciente não quer dizer que o mesmo venha a desenvolver a doença, inclusive, muitos dos pacientes que não apresentam estes fatores de risco não são investigados corretamente.

2.5 Doppler de carótidas e vertebrais

2.5.1 Histórico

Provavelmente a primeira descrição de um AVE ou déficit neurológico tenha origem bíblica, através de um evento experimentado pelo Rei David, datado aproximadamente de 1050 a.C. Callow (1996) sugere que um AVE no hemisfério dominante foi a base para a descrição do próprio David de sua aparente disartria e paralisia da extremidade superior.

A palavra grega “apoplexia”, que significa “perda súbita dos sentidos”, foi escolhida por Hipócrates (400 a.C.) para descrever o que hoje nós entendemos como síndrome isquêmica. O conceito de hemiplegia, embora reconhecido por muito tempo, somente foi descrito entre 625 e 690 d.C. por Paul de Aegina (CALLOW, 1996).

A palavra carótida é derivada do grego e significa atordoado ou mergulhado em sono profundo. No século XVI, Ambroise Paré denominou esses vasos de “carótidas direita e esquerda ou artérias que adormecem”. De acordo com Dandy, Hipócrates e Galeno já sabiam que a hemiplegia era devido à lesão do lado oposto do cérebro (CALLOW, 1996).

Em 1842, o austríaco Johann Christian Andreas Doppler (1803-1853), (Figura 12), formulou uma teoria física que descreve a mudança de uma frequência de onda no momento em que sua fonte se movimenta em relação ao observador. O experimento foi posto em prática em 1845 por Buys Ballot, um físico alemão (AASLID & NEWELL, 1992). A aplicação deste princípio em Medicina ocorreu em 1960, quando Satomura e Kaneko descreveram a sua utilização para investigar a circulação extra e intracraniana, porém o primeiro registro oficial da investigação da circulação intracraniana se deu em 1981, realizada por Aaslid, com a metodologia desenvolvida pelo Departamento de Neurocirurgia de Berna (AASLID & NEWELL, 1992).



Figura 12: Johann Christian Andreas Doppler (1803-1853)

Fonte: www.salzburg.eu

2.5.2 Introdução à metodologia da ecografia com doppler

Na visualização por ecografia, as paredes vasculares se mantêm em padrão regular conferente às camadas anatômicas normais, quando na ausência das placas de ateroma.

A íntima media padrão é representada pela área de tecido que inicia borda luminal da artéria e finda na fronteira entre a média e a adventícia; a região é bem retratada pelo ultrassom. De acordo com o aumento da idade, vê-se que o padrão do EMI tende a tornar-se mais espesso, como um caminho em linha reta de segmentos arteriais; o que se acelera quando em hipertensão arterial sistêmica e predisposição genética, fatores de risco para aterosclerose (TOUBOUL et al, 2007).

2.5.3 Espessamento médio-intimal e placa aterosclerótica precoce

A medição do espessamento médio intimal surgiu como um recurso de investigação do envelhecimento normal e para o diagnóstico da aterosclerose pré-clínica. Os estágios de placa, de estenose ou de oclusão associados com o aumento do EMI também são possíveis de ser identificados por imagem ecográfica, salvo quando em fase intermediária (de aumento da EMI e formação de placa), na qual estas podem não ser identificáveis por histologia ou ultrassom. De acordo com estudos de epidemiologia e intervenção, há diferença entre os padrões de fatores de risco e predição de eventos cardíacos e cerebrais para EMI da carótida e placa carotídea, mesmo havendo fatores de risco comuns para aterosclerose (TOUBOUL et al, 2007).

A medida do EMI está relacionada com a presença de lesão aterosclerótica em membros inferiores, na aorta e em outras artérias carotídeas e já está estabelecida como uma medida de aterosclerose generalizada (DIJK et al, 2006); o seu aumento está associado à maioria dos fatores de risco para aterosclerose como hipertensão sistólica, colesterol total e LDL-C, tabagismo, proteína C reativa ultrasensível(PCR-us) e diabetes e, também ao risco de ocorrência de eventos cardíacos. O aumento de 0,19 mm no EMI, proporciona crescimento do risco de doença coronariana em 69% em mulheres e 36% em homens. Já o risco de AVC é 8,5 maior em mulheres e 3,6 em homens, com EMI maior ou igual a 1 mm, quando comparado com aqueles indivíduos cujo EMI esteja menor que 0,6 mm (ZIELINSKI et al, 2007).

Para caracterizar EMI e placa ateromatosa são recomendadas as seguintes definições ecográficas (MALLIKA et al, 2007): EMI é um padrão de linha dupla visualizado por ecotomografia em ambas as paredes das artérias carótidas comuns em uma visualização longitudinal da imagem (Figura 13). Este padrão é formado por duas linhas paralelas, que consistem nas bordas superiores das duas fronteiras anatômicas: lúmen intimal e interfaces da média adventícia (MERLO et al, 2002). A placa invade a luz arterial em pelo menos 0,5 mm ou equivalente a 50% do valor do EMI, ou apresenta uma espessura de 1,5 mm (LORENZ et al, 2006), ao ser medida a partir da média-adventícia à interface do lúmen intimal. A partir destas definições, será possível classificar a maioria das lesões de carótidas pelas imagens da ecografia.

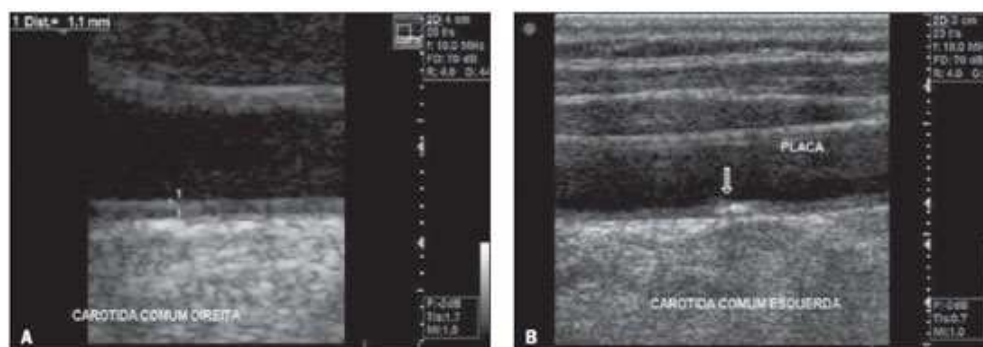


Figura 13: Imagens ecográficas de espessamento (A) e placa de ateroma (B); corte longitudinal da artéria carótida comum direita e esquerda.

Fonte: Soares et al, 2010.

O EMI pode ser medido na artéria carótida comum, no bulbo e na origem da artéria carótida interna (ILLUMINATI et al, 2003). Estas medições são mais simples se realizar em local livre de placa, onde o padrão de linha dupla pode ser melhor observado (o que torna as medições mais fáceis, precisas e reproduzíveis), podendo ser padronizadas a partir das análises informatizadas (MERLO et al, 2002).

2.5.4 Clínica da aterosclerose: da suspeita ao exame

2.5.5 Suspeita clínica e exame clínico

Ao se referir sobre a expressão clínica da aterosclerose, cabe relevar sua importância clínica nas complicações da doença nas carótidas, sobretudo em eventuais sequelas neurológicas. Os quadros neurológicos oriundos de complicações da doença carotídea decorrentes de aterotromboses podem afetar tanto os hemisférios cerebrais quanto os ramos da artéria oftálmica. As lesões relacionadas ao quadro clínico vão depender da região afetada do cérebro, como por exemplo, se o hemisfério for dominante para a linguagem, a lesão poderá causar afasia (YAMADA et al, 1998).

É importante observar atentamente cada diagnóstico nestas situações. De acordo com alguns estudos, um terço dos diagnósticos de acidente isquêmico transitório correspondeu a distúrbios neurológicos transitórios de origem não vascular, tornando importante o diagnóstico, a conduta terapêutica bem como o prognóstico (RODRIGUES et al, 1997).

Em relação aos sintomas locais de doença carotídea, é comum associar a presença de um sopro cervical após a exclusão da irradiação de um sopro cardíaco com doença carotídea grave. Esta ligação não existe e a auscultação do pescoço não é considerada um bom método de rastrear a estenose carotídea (JAUSSERRAN et al, 1998).

O sopro cervical existe em cerca de 4% da população com mais de 40 anos. Em geral, as estenoses pré-oclusivas (mais graves) não apresentam sopro, e aproximadamente 75% das estenoses carotídeas existem em doentes sem sopros cervicais (JAUSSERRAN et al, 1998). Além disso, um percentual de 40 a 70% das artérias com sopros assintomáticos não apresentam compromisso significativo do fluxo sanguíneo (JAUSSERRAN et al, 1998). Desta forma, apesar deste sinal sugerir doença carotídea, ele não dá informação sobre a sua gravidade. De outro modo, a sua ausência não implica nem sugere ausência de doença carotídea (GEROULAKOS et al, 1993). Cabe lembrar que, além dos sopros arteriais e cardíacos, outros processos não estenosantes, como tortuosidades e estados de circulação hiperdinâmica, podem causar sopros cervicais.

Muitos doentes queixam-se de dor no pescoço e relacionam esta queixa com possíveis problemas de circulação. Não existe qualquer relação semiológica entre a dor e qualquer grau de estenose carotídea. Este sintoma aparece, de fato, nas situações de dissecação aguda da carótida, podendo também surgir, nestes casos, um sopro com característica vascular pulsátil ipsilateral e a síndrome de Claude-Bernard-Horner. Assim, a palpação e a auscultação das artérias carótidas no pescoço não fornecem informação sobre a presença ou o grau de estenose carotídea. Os pulsos carotídeos raramente são simétricos e mesmo numa situação de oclusão de uma carótida interna, pode-se palpar um pulso que é transmitido pela carótida primitiva (GOLDSTEIN, 1998).

2.5.6 Características morfológicas

A caracterização morfológica dos eixos carotídeos e da doença carotídea é efetuada através de ecografia e doppler, que permitem identificar placas de ateroma e determinar alguns aspectos importantes como (PEDRO et al, 1991):

- detecção e localização da doença carotídea
- determinação do grau de estenose
- determinação da extensão da doença
- caracterização morfológico-ecográfica da placa de ateroma

Portanto, através dos meios referidos é possível classificar um segmento de carótida com placa de ateroma quanto ao grau de estenose que esta condiciona, como se pode ver na Tabela 2 (BARNET et al, 1998).

Tabela 2: Grau de estenose por intervalos relacionados com diferentes prognósticos

CLASSIFICAÇÃO	GRAU DE ESTENOSE
ESTENOSE LEVE	< 50%
ESTENOSE MODERADA	50 a 69%
ESTENOSE GRAVE	70 a 99%
OCLUSÃO	100%

Fonte: Barnett et al, 1998

Destaca-se também o conceito de estenose significativa: trata-se do grau de estenose que condiciona uma diminuição do débito sanguíneo a jusante da placa, colocando em risco a perfusão cerebral (SCHROEDER, 1993), ou que pode comprometer a integridade da placa pelas alterações hemodinâmicas que se verificam nas zonas de maior estenose. A redução da perfusão cerebral só surge em situações de doença obstrutiva múltipla. As conhecidas anastomoses intra e extracranianas contribuem para que não se instale uma isquemia cerebral, mesmo com oclusão de uma carótida interna. No entanto, é considerada significativa aquela estenose que condicione alterações hemodinâmicas neste eixo.

No que diz respeito à constituição da placa de aterosclerose, só os métodos histopatológicos podem dar informação precisa. Todavia, através do aspecto ecográfico da placa de ateroma, é possível tecer várias considerações sobre a sua constituição (HOROWITZ, 1998). Logo, é possível observar vários tipos de ecogenicidade nas placas (FERNANDES et al, 2001; BILLER & THIES, 2000) como se pode observar na Tabela 3:

Tabela 3: Placas de ateroma e ecogenicidade	
TIPO DE PLACA	ECOGENICIDADE
HOMOGENEA	HIPERECOGÊNICA HIPOECOGÊNICA
HETEROGÊNICA OU MISTA	HIPOECOGENICIDADE PREDOMINANTE HIPERECOGENICIDADE PREDOMINANTE

Fonte: Fernandes et al, 2001.

Pensa-se atualmente que as placas hipocogênicas e as placas mistas (com áreas de hipocogenicidade) sejam constituídas por um núcleo lipídico instável (por vezes com necrose ou hemorragia intraplaca) e recobertas por uma fina camada fibrosa. Este tipo de placa facilmente aparece com fissuras e ulcerações em sua superfície, o que inicia uma série de cascatas inflamatórias promotoras da trombose local e embolização para os hemisférios cerebrais (JAUSSERRAN et al, 1998; HOROWITZ, 1998; BILLER & THIES, 2000). Este raciocínio leva à classificação destas placas como placas de risco, ao contrário das placas hiperecogênicas.

A existência de calcificação nas placas não parece contribuir para o seu potencial emboligênico (HOROWITZ, 1998). Apesar da avaliação da ecodensidade da placa servir como um argumento a mais na conduta clínica dos doentes com estenose carotídea, deve-se reconhecer que esta ainda não tem valor suficiente para ser utilizado de maneira isolada ou sobrepondo-se aos argumentos clássicos de gravidade - o grau de estenose, cuja importância como fator independente preditivo de isquemia cerebral tem sido confirmado nos estudos mais recentes (ROTHWELL et al, 2000) e também citado em várias publicações de cuidados de saúde primários (BILLER & THIES, 2000).

2.5.7 Características hemodinâmicas

É possível avaliar a velocidade em tempo real através do doppler pulsátil, a partir do ponto que resulta num traçado típico de determinado eixo de artéria, conforme as características do território de irrigação. As alterações deste traçado informam sobre a existência, a localização e a gravidade da doença, e vão desde o aparecimento de turbulência,

com o alargamento do espectro de velocidades, até o aumento da velocidade sistólica e diastólica máximas em situações de estenose mais importantes (FERNANDES et al, 2001). Esta avaliação se deve fazer no ponto de maior estenose (ou imediatamente a jusante) e o registro dos valores referidos permite concluir sobre o grau de estenose carotídea. A velocidade sistólica máxima poderá estar aumentada devido a uma estenose importante nesse local. Poderá também estar diminuída devido a uma estenose importante a montante ou por haver estenose pré-oclusiva.

A velocidade diastólica máxima também aumenta nos locais de estenose e pode estar diminuída, caso exista uma oclusão a jusante (PEDRO et al, 1991). É possível, também, através do aumento da velocidade sistólica e diastólica, obter uma medida do grau de estenose, como se pode ver pela Tabela 4.

Tabela 4: Alterações hemodinâmicas em diferentes graus de estenose

Grau de estenose	VSM	VDM
<50%	<125	<40
DE 50% A 69%	>125	<40
>70%	>125	>40
OCLUSÃO	SEM FLUXO	

VSM = velocidade sistólica máxima;

VDM = velocidade diastólica máxima.

Fonte: Fernandes et al, 2001.

De fato, a ecografia com doppler permite identificar e caracterizar a doença carotídea e tomar decisões clínicas com benefícios claros para o paciente. Apesar de não ser consensual, é opinião de vários autores que a evolução da história clínica em conjunto com o exame clínico, mais o estudo por *triplex scan* fornecem informações fundamentais e, na maioria dos casos, suficientes para a conduta terapêutica de cada paciente (GORELICH, 1999).

2.6 Terapêutica

Identificar portadores assintomáticos de aterosclerose com maior predisposição a desenvolver doença aterosclerótica é primordial para que se faça de modo efetivo a prevenção, bem como se defina corretamente as metas terapêuticas. Pelo menos em metade deste grupo ocorre a primeira manifestação da doença, sob a forma de um evento coronariano agudo. O Escore de Risco de Framingham (ERF) foi um importante algoritmo, criado com base em regressão de estudos populacionais, que faz uma estimativa da possibilidade de um indivíduo sem diagnóstico prévio de aterosclerose, ter alto ou baixo risco de sofrer eventos coronarianos dentro de um período de 10 anos (IV DBSDPA, 2007).

O escopo da terapêutica em dislipidemias é fazer prevenção primária e secundária contra DAC e doença aterosclerótica cerebrovascular e periférica. Pode também ter por objetivo a regressão de xantomias e a redução dos riscos de pancreatite aguda (II CBD, 1996). Este procedimento deve se iniciar pela mudança de estilo de vida (MEV) de modo sistemático e, se não apresentar eficácia ou não for possível aguardar os efeitos da MEV, deve se ponderar o emprego de hipolipemiantes (associados ou não a outros fármacos) a depender de cada caso, mantendo também a manutenção da dieta (IV DBSDPA, 2007).

Valores de LDL-C <160 mg/dl, quando na ausência de outros dois fatores de risco, e <130 mg/dl em presença destes, são os níveis considerados para a prevenção primária da aterosclerose. Caso haja um único fator de risco associado, este definirá a intensidade do controle da concentração plasmática de LDL-C. Para a prevenção secundária, além de controlar rigorosamente os demais fatores de risco, deve-se ter como estimativa manter os níveis de LDL-C <100 mg/dl. Para quaisquer das duas prevenções, se tem o objetivo de manter as concentrações de HDL-C >35mg/dl e de TG <200mg/dl (II CBD, 1996).

2.6.1 Prevenção primária

É o conjunto dos mecanismos utilizados para impedir a aterosclerose em carótidas; o tratamento dos principais fatores de risco como a dislipidemia, tabagismo, hipertensão arterial sistêmica e diabetes (FERNANDES et al, 2001).

2.6.2 Prevenção secundária

É aplicável quando já está instalada a doença carotídea (placas de ateroma). Nesta situação deve-se evitar a progressão da doença e a ocorrência de complicações. A correção dos fatores de risco para aterosclerose tem um papel importante, aliada ao papel da terapêutica médica e cirúrgica, cada uma com as suas indicações específicas. Neste escopo é ainda

importante monitorar a evolução do grau de estenose bem como a situação clínica neurológica do indivíduo e de outros fatores de risco para infarto cerebral (FERNANDES et al, 2001).

2.6.3 Prevenção terciária

A prevenção terciária aplica-se depois de instalados os sintomas neurológicos como complicação da doença carotídea. Todas as outras medidas anteriormente referidas se aplicam e, neste caso, o tratamento da fase aguda do infarto cerebral e a recuperação das sequelas deste têm especial importância. Falando especificamente do tratamento da doença carotídea, as possibilidades de intervenção limitam-se à terapêutica médica ou a esta em associação de endarterectomia carotídea. Assim, a conduta terapêutica para os pacientes vai depender do equilíbrio entre os riscos e benefícios cirúrgicos e da história natural da doença cerebrovascular extracraniana (FERNANDES et al, 2001).

2.7 Estratificação de risco

A estratificação de risco de eventos coronarianos usa como importante ferramenta o ERF, com o escopo de calcular o risco absoluto de eventos coronarianos fazendo atribuições por pontos nas relações entre idade, pressão arterial, níveis séricos de colesterol e suas frações, tabagismo e se o indivíduo é portador ou não de diabetes *mellitus*. Os resultados se compõem uma tabela com valores de referência para ambos os sexos. Para dimensionar o risco de desenvolver aterosclerose, é importante basear-se em dados sobre fator de risco e marcador de risco (III DBSD/DPA, 2001).

Segundo a III DBSD/DPA (2001), os riscos de desenvolvimento de doenças coronárias se dividem em:

Baixo risco: quando o risco absoluto de eventos é menor que 10% em 10 anos. Indivíduos com um fator de risco (com exceção à diabetes *mellitus*) além do colesterol LDL-C >160mg/dl. Para estes pacientes não se faz necessário o uso de escores de risco. A meta lipídica para este grupo é: LDL-C <130mg/dl, contudo, tolera-se valor de LDL-C até 160mg/dl. Perfil desejado: CT <200mg/dl, HDL-C >40mg/dl e TG <150mg/dl.

Médio risco: risco de evento maior do que 10%, porém menor que 20% em 10 anos. Indivíduos com dois fatores de risco, exceto DM além do colesterol LDL-C >160mg/dl. A meta recomendada a este grupo é ter LDL-C <130mg/dl, com tolerância até 160mg/dl e o perfil desejado é igual ao grupo de baixo risco.

Alto risco: ocorre quando o risco de evento é maior que 20% em 10 anos ou quando o indivíduo ultrapassa os 60 anos de vida. Aplica-se a indivíduos com mais de dois fatores de

risco (exceto diabetes *mellitus*) além do nível de colesterol LDL-C >160mg/dl, principalmente se for do sexo masculino e acima dos 55 anos de idade com outros fatores de risco associados, diabéticos e portadores ou não de doença aterosclerótica coronária tais como: aneurisma de aorta, insuficiência vascular periférica ou doença cerebrovascular sintomática. Encontra-se também neste grupo os portadores de síndromes genéticas, como a hipercolesterolemia familiar e a hiperlipidemia familiar combinada. O cálculo do risco absoluto de eventos poderá ser feito pelo uso do escore de risco de Framingham, que dá uma noção sobre o risco de eventos coronarianos em diabéticos, contudo, este não é recomendável para o estabelecimento de meta lipídica, uma vez que a mesma nesses indivíduos é LDL-C <100mg/dl, diferente dos outros níveis de risco. Da mesma forma, o ERF não é indicado para os indivíduos portadores de manifestações clínicas da aterosclerose ou dislipidemias de origem genética. O recomendado para este grupo é que se faça a prevenção primária de alto risco e a prevenção secundária para atingir a meta de LDL -C <100mg/dl; O perfil lipídico desejado para estes pacientes é colesterol total < 200mg/dl, HDL-C > 40mg/dl, ou HDL-C > 45mg/dl em diabéticos e triglicérides <150mg/dl.

De acordo com a IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose de 2007, as fases de estratificação de risco são quatro:

1ª fase – Presença de doença aterosclerótica significativa ou de seus equivalentes. Estima-se o risco de doença aterosclerótica baseando-se na análise conjunta de características que aumentam a chance de um indivíduo desenvolver a doença. Sendo assim, a manifestação prévia da própria doença é o maior evidenciador de risco. Deste modo, a identificação de manifestações clínicas da doença aterosclerótica ou de seus equivalentes, como a presença de diabete *mellitus* tipos 1 ou 2 é o primeiro passo na estratificação do risco . Indivíduos com estas características possuem risco maior do que 20% de apresentar novos eventos cardiovasculares em 10 anos.

2ª fase – Avaliação do escore de risco. Nos indivíduos sem doença aterosclerótica significativa é possível se estimar através do ERF àqueles que possuem risco baixo, quando este é menor do que 10% de sofrer infarto do miocárdio ou morte por doença coronária no período de 10 anos, e risco alto, quando há possibilidade maior do que 20% de infarto ou morte por doença coronária no período de 10 anos. No grupo dos portadores de risco intermediário, aqueles classificados pelo ERF com probabilidade entre 10% e 20%, para que a avaliação do ERF se dê com maior acurácia, será importante atenção aos fatores agravantes (3ª Fase). Os critérios para cálculo de risco pelo ERF estão citados na (APÊNDICE - protocolo IV).

3ª fase – Avaliação de fatores agravantes. A estimativa de risco pelo ERF é menos precisa no grupo de riscos intermediários - no qual ocorre a maioria dos eventos - na avaliação do risco cardiovascular de curto prazo e nos jovens e nas mulheres. Os agravantes que levam o indivíduo à categoria de risco imediatamente superior poderão ser observados na Tabela 5. Os pacientes de baixo e médio risco que apresentem critérios agravantes podem ser classificados em uma categoria de risco acima daquela estimada isoladamente pelo escore. Também poderá ser útil a realização de testes diagnósticos bioquímicos e/ou de exames de imagem para detecção da aterosclerose subclínica, se incorporados de forma individualizada em indivíduos que apresentem história familiar de doença aterosclerótica precoce ou que sejam considerados como de risco intermediário segundo o ERF.

Tabela 5 - Fatores agravantes de risco

-
- História familiar de doença coronária prematura (parente de primeiro grau masculino < 55 anos ou feminino < 65 anos)

 - Síndrome metabólica

 - Micro ou macroalbuminúria (>30 µg/min)

 - Hipertrofia ventricular esquerda

 - Insuficiência renal crônica (creatinina ≥1,5 mg/dl ou clearance de creatinina < 60 ml/min)

 - Proteína-C-reativa de alta sensibilidade >3 mg/l (na ausência de etiologia não aterosclerótica)

 - Exame complementar com evidência de doença aterosclerótica subclínica • Escore de cálcio coronário > 100 ou > percentil 75 para idade ou sexo • Espessamento de carótida (IMT) máximo > 1 mm. • Índice tornozelo braquial-ITB < 0,9

4ª fase – Estabelecimento de metas terapêuticas e reavaliação do risco. A mudança do estilo de vida (MEV) e a instituição de medidas não-farmacológicas devem ser indicadas a todos os pacientes com dislipidemia isolada e àqueles com risco cardiovascular aumentado. O tratamento farmacológico deve ser iniciado naqueles de risco baixo (6 meses após) ou intermediário (3 meses após) que não atingirem as metas (Tabela 6) após medidas não-farmacológicas. Nos indivíduos de alto risco as medidas não-farmacológicas e o tratamento com hipolipemiantes devem ser iniciados simultaneamente. Nos pacientes com doença aterosclerótica significativa, a obtenção do nível de LDL-C igual ou inferior a 70 mg/dl traz redução adicional da incidência de eventos cardiovasculares.

Tabela 6 - Medidas terapêuticas iniciais e período de reavaliação

Estrato	Medida terapêutica inicial	Reavaliação das metas
Baixo risco	MEV	6 meses
Risco intermediário	MEV	3 meses
Alto risco	MEV + tratamento farmacológico	3 meses
Aterosclerose manifesta	MEV + tratamento farmacológico	Individualizada

2.8 Doença carotídea sintomática

No que diz respeito aos indivíduos com os quadros neurológicos, dados dos principais estudos em larga escala *European Carotid Surgery Trial* (ECST) e *North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial* (NASCET), mostraram que, para estenoses inferiores a 50%, os riscos perioperatórios e os benefícios a médio e longo prazo não tinham diferenças significativas ou mesmo que os riscos seriam maiores que os benefícios (CINA, 2000). Em 1998 foram publicadas curvas de Kaplan-Meier do estudo NASCET com a monitorização da ocorrência de infarto cerebral ipsilateral. Este trabalho mostrou que, para o grupo com estenose inferior a 50%, a diferença entre o braço médico e o braço cirúrgico não era estatisticamente significativa ($p=0,16$) (BARNET et al, 1998).

Nestes mesmos trabalhos, também se verificou benefício discreto em fazer endarterectomia no grupo com estenose carotídea entre 50% e 69%. Esta vantagem manteve-se por cerca de cinco anos. A seleção de doentes com este grau de estenose e da equipe cirúrgica precisa ser altamente criteriosa para que se obtivesse discreto benefício (BARNET et al, 1998).

No grupo de pacientes portadores de estenose entre 50 e 69%, parece ser clara a existência de um subgrupo que tem benefício cirúrgico. Nos casos de estenose igual ou superior a 70%, demonstrou-se que a terapêutica cirúrgica é a escolha mais benéfica ao paciente e que este benefício se mantém, pelo menos, durante oito anos. Nas curvas de Kaplan-Meier do estudo NASCET, publicadas em 1998, verificam-se, para este grau de estenose, diferenças estatisticamente significativas ($p<0,001$) entre terapêutica clínica e a cirúrgica do estudo, favoráveis à decisão cirúrgica (CINA, 2000).

Alguns autores têm referido, em publicações de prevenções primárias e secundárias, que para indivíduos sintomáticos, a terapêutica médica deve ser prevalente para estenoses inferiores a 50% e a terapêutica cirúrgica, associada à terapêutica médica, para os indivíduos com estenoses iguais ou superiores a 70%. Entretanto, em se tratando de indivíduos sintomáticos com estenoses entre 50% e 69%, estes se encontram numa zona em que os benefícios são discretos e a seleção dos pacientes e da equipe cirúrgica deve ser altamente criteriosa (BILLER & THIES, 2000).

2.9 Doença carotídea assintomática

Em pacientes portadores de doença aterosclerótica carotídea assintomática há registros de alguns estudos publicados sobre endarterectomia: CASANOVA (1991), *Mayo Asymptomatic Carotid Endarterectomy Study Group* (1992), *Veterans Affairs Cooperative Study Group* (1993) e ACAS (1995). Destes, provavelmente o melhor construído foi o estudo ACAS, o qual demonstrou evidência científica de que, nas estenoses iguais ou superiores a 60%, há um discreto benefício para os pacientes submetidos à endarterectomia carotídea, mantendo-se este benefício por mais de cinco anos, ao invés de fazer apenas uso da terapêutica médica (BILLER & THIES, 2000; CHAMBERS, 2000).

A *American Heart Association* (AHA) estabeleceu protocolos de procedimentos para os portadores assintomáticos, baseados em risco cirúrgico. É referido que, quando há risco cirúrgico < 3%, a intervenção da cirurgia é benéfica se em casos de estenose > 60%. Para riscos cirúrgicos entre 3-5% e entre 5-10% não há indicação formal para cirurgia, existindo apenas alguns casos específicos onde esta indicação é aceita. Ressalta-se ainda, a necessidade de continuar a monitorizar e tratar os fatores de risco para a aterosclerose nestes doentes, independentemente da decisão quanto à terapêutica clínica *versus* cirúrgica (MOREY, 1998).

3. JUSTIFICATIVA

A doença arterial carotídea tem sua importância no aumento do risco de AVE, acidente isquêmico transitório (AIT), tem associação com a aterosclerose coronária e pode ser agravada pela presença de lipoproteínas aterogênicas, oriundas de modificações iniciadas por diversos processos *in vivo*, como acetilação, glicação, nitração e mais comumente oxidação de componentes tanto estruturais quanto aqueles com funções metabólicas das partículas lipoprotéicas. Essas modificações prejudicam a remoção do colesterol dos tecidos e o trânsito do colesterol entre as lipoproteínas fato esse que acarreta na permanência dessas lipoproteínas no plasma onde o contato com os tecidos facilita a captação inespecífica dessas partículas por receptores *scavenger*, família de receptores CD36, comumente associados ao processo aterogênico. Sendo assim, o presente estudo tem como escopo avaliar a relação entre aterosclerose de artérias carotídeas e alterações do metabolismo das lipoproteínas a partir de estudos de imagem e avaliação laboratorial da incorporação/transferência de colesterol entre partículas lipoprotéicas e determinação da atividade de biomarcadores, como a paraoxonase que atua na proteção da LDL evitando a sua modificação, índices calculados a partir das determinações de rotina e associação dos dados gerais dos participantes.

4. OBJETIVOS

4.1 Geral

- Avaliar as concentrações plasmáticas de biomarcadores do metabolismo lipídico e resultados de doppler de carótidas, relacionando-os com a doença aterogênica de carótidas.

4.2 Específicos

- Determinar a relação das concentrações plasmáticas de biomarcadores, atividade de paraoxonase e a transferência de colesterol de outras lipoproteínas para a HDL em amostras de pacientes com e sem doença aterogênica de carótidas;
- Verificar a relação entre os exames laboratoriais, índices, fatores e marcadores de risco com os resultados do doppler de carótidas para presença de aterosclerose de carótidas;

5. METODOLOGIA

5.1 Desenho do estudo e casuística

Foi realizado estudo de corte transversal através da cooperação entre o Hospital Naval de Salvador e a Faculdade de Farmácia da UFBA, em população de militares e seus dependentes, independente de sexo, raça e/ou religião. A amostra populacional foi selecionada por conveniência e, a partir da triagem, obteve-se o “n” amostral de 66 indivíduos dos 171 cadastrados no Hospital Naval de Salvador, residentes em Salvador - Bahia, com faixa etária entre 20 anos e 77 anos; o Termo de Consentimento Livre e Pré-Esclarecido foi assinado por cada indivíduo, concordando em participar do estudo.

Os exames de diagnóstico por imagem foram realizados no serviço de Bio-imagem ultrassonográfica vascular do hospital citado, sempre pelo mesmo examinador, com aparelho de ecografia Envisor C serie M2540A, PHILLIPS Medical Systems, para captação de imagem no modo uni-bidimensional e doppler-color, com o objetivo de avaliar e realizar análise clínica e ultrassonográfica de placas e irregularidades ateroscleróticas.

As determinações laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Bioquímica Clínica do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da UFBA e no Laboratório de Metabolismo de Lipídeos do InCor - HCFMUSP/SP.

Os dados relativos à caracterização, identificação, histórico (social e patológico) e uso de medicação regular encontram-se no Anexo E.

5.2 Seleção populacional

A amostra populacional foi representada por 66 indivíduos cadastrados no Hospital Naval de Salvador, situado na cidade de Salvador, com idade entre 20 anos e 77 anos.

A distribuição de idade e gênero da amostra estudada está representada no Anexo E.

Adotaram-se os seguintes critérios de seleção de indivíduos para o determinado estudo:

Critérios de inclusão

- Ambos os sexos;
- Faixa etária: adulto-jovem a senilidade (20 a 77 anos);
- Pacientes do ambulatório do Hospital Naval de Salvador e não hospitalizados (internados);
- Termo de consentimento assinado, após informação;

- Doppler de carótidas e vertebrais após a realização do perfil lipídico;
- Perfis lipídicos independentes dos valores normais de referência, mesmo em portadores de diabetes *mellitus*, hipertensão arterial, hipotireoidismo ou dislipidemia, em uso ou não de medicamentos.

Critérios de exclusão

- Pacientes hospitalizados por qualquer motivo;
- Presença de patologias de temporalidade aguda;
- Não consentimento em participar da pesquisa;
- Indivíduos portadores de disfunção renal (creatinina sérica > 2,0 mg/dl) e ou síndrome nefrótica (proteinúria > 3,0 g/l e albumina sérica < 3,0 g/l);
- Aqueles que, por qualquer motivo, não realizaram doppler vascular;
- Evidência clínica ou laboratorial de qualquer doença crônica como hepatopatia, doenças do tecido conjuntivo e neoplasias.
- Doença em estágio terminal.

5.3 Avaliações clínica, laboratorial e por imagem

5.3.1 Anamnese

A anamnese foi realizada por exame clínico habitual, observação das queixas e duração destas. Em seguida, procedeu-se a análise da evolução da doença. Questionou-se sobre as doenças progressas (doença coronariana isquêmica, diabetes *mellitus*, acidentes vasculares cerebrais e ataque isquêmico transitório, hipertensão arterial sistêmica, hipotireoidismo, insuficiência renal, dislipidemia) e história social (etilismo, tabagismo e atividade física), bem como do uso de qualquer tipo de medicamento regular para uma das causas citadas. Estes dados foram obtidos por meio de informações fornecidas pelo próprio indivíduo ou por seu responsável direto.

5.3.2 Métodos na realização da ecografia de carótidas e vertebrais

Os pacientes foram avaliados por anamnese, semiologia clínica e exames ecográficos das artérias carótidas e vertebrais extracranianas. Os indivíduos foram colocados em posição supina, com a cabeça inclinada em ângulo de 45° do lado a ser examinado. As artérias

carótidas foram avaliadas bilateralmente, por um mesmo examinador, através de um aparelho de ecografia de alta resolução (Envisor C serie M2540A, PHILLIPS Medical Systems), conectado a um transdutor linear de 7,5 MHz, preferencialmente a profundidade padrão de 4 cm. As imagens longitudinais foram obtidas ao nível das artérias carótidas comuns, sincronizada a diástole ventricular, especificamente no topo da onda R do eletrocardiograma. O espessamento médio-intimal foi definido como a distância entre a borda externa da primeira linha ecogênica e a borda externa da segunda linha ecogênica da parede posterior. Três mensurações foram feitas a um centímetro antes da bifurcação de cada carótida (direita e esquerda), segundo WENDELHAG et al,1992.

5.3.3 Avaliação por imagem do EMI

A avaliação por imagem teve como objetivo localizar e quantificar lesões ateromatosas nas carótidas comuns e em ramos internos e externos. O espessamento médio intimal foi quantificado somente nas artérias carótidas comuns bilateralmente (WENDELHAG et al, 1992), sendo considerados normais os valores compreendidos entre 0,4 e 0,8 mm. Valores entre 0,9 e 1,4 mm foram considerados como espessados, e placas de ateroma quando maior que 1,5 mm (TOUBOUL et al, 2007).

5.3.4 Classificação das lesões estenóticas

Foram feitas estimativas do grau de estenose promovida pelas placas de ateroma nas artérias carótidas, segundo as normas da North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET), em:

- Grau I (normal);
- Grau II (entre 1% e 29%);
- Grau III (entre 30% e 49%);
- Grau IV (entre 50% e 69%);
- Grau V (entre 70% e 99%);
- Grau VI ou oclusão (100%); (RANDOUX et al, 2001).

Não se realizou a classificação com base no tipo de ecogenicidade das placas, que é dividido em quatro subgrupos:

- Tipo I: hipoecóicas;

- Tipo II: predominantemente hipoecóicas em associação com pequenas áreas hiperecóicas;
- Tipo III: predominantemente hiperecóicas com pequena área hipoecóicas associadas;
- Tipo IV: hiperecóicas.

5.4 Determinações laboratoriais

5.4.1 Laboratório Clínico

Foram encaminhadas ao Laboratório de Bioquímica Clínica da Faculdade de Farmácia da UFBA amostras de plasma/soro em alíquotas de aproximadamente 10 ml para determinação das concentrações de colesterol total (CT), suas frações e triglicerídios (TG), obtidas após 12-14 horas de jejum, pelos métodos de Siedel. O HDL-C foi determinado por método homogêneo (BioSystems, Espanha). As concentrações de colesterol VLDL e LDL foram calculadas pela fórmula de Friedewald (1972) ou por método homogêneo para determinação da LDL (TG até 150mg/dl) (OKADA, 2004). As alíquotas das amostras de plasma/soro foram utilizadas para os estudos de cinética de transferência *in vitro* de colesterol. Foram também calculados os índices de Castelli I e II.

5.4.2 Laboratório de Pesquisa

5.4.2.1 Tamanho das Partículas de HDL

Após determinação da concentração dos triglicerídeos plasmáticos e do colesterol das partículas de HDL, o tamanho das partículas de HDL foi estimado segundo a fórmula de MARUYAMA et al (2003), sendo obtida a partir da razão triglicérides/HDL-C (índice de Gazziano).

5.4.2.2 Transferência de Colesterol Livre (CL) para a HDL

Para a avaliação da transferência do colesterol livre para HDL foi utilizado o método do Substrato Exógeno (STOKKE & NORURN, 1971; CHANNON et al, 1990). Neste método, moléculas marcadas radioativamente com trítio, ³H-colesterol livre, foram incubadas com plasma a 4°C por uma hora, seguido de elevação da temperatura a 37°C por mais três horas. Decorrido o tempo, a amostra de plasma contendo as moléculas marcadas foram precipitadas juntamente com partículas contendo apo B. A fração HDL foi obtida após precipitação da amostra. O sobrenadante obtido do precipitado foi submetido ao fluxo constante de argônio até secar completamente, para em seguida ser ressuspenso em 100 µl de

solução clorofórmio/metanol, na proporção 2:1. Essas suspensões foram aplicadas em placas de sílica gel 60H com a utilização de microtubos de coleta capilar - para realização da Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e posterior determinação do decaimento isotópico por cintilação líquida - com o objetivo de avaliar a transferência e percentual de esterificação do colesterol livre.

Inicialmente foi realizado o preparo de placas para a Cromatografia em Camada Delgada (CCD) utilizando 10 gramas de sílica gel 60H. Verificando-se que a sílica é higroscópica, as lâminas prontas foram armazenadas em dessecador. Com relação à extração lipídica, esta foi realizada em etapas e por dias seguidos. Utilizou-se 250 µL das amostras analisadas adicionando-se clorofórmio e metanol na proporção 2:1. A segunda parte destinou-se à separação das fases lipídica e protéica, que se fez por uso de bomba a vácuo e pipetagem da fase lipídica com a transferência da mesma para tubos devidamente identificados. A fase clorofórmica foi seca com gás inerte – (argônio) e, deste modo, conservou-se a integridade das partículas lipídicas. As amostras secas foram mantidas em geladeira.

Após realizar a extração lipídica, as amostras foram aplicadas em placas de CCD previamente preparadas. Estas foram aplicadas de forma pontual nas placas a pelo menos 0,5 cm da borda inferior, com auxílio de tubo capilar de vidro. Para se evitar o excesso de hidratação da sílica, as placas com este material foram ativadas em estufa durante uma hora a 120°C.

Para a realização da cromatografia, inicialmente preparou-se a fase móvel contendo n-hexano, éter-etílico e ácido acético na proporção 70:30:1. A corrida cromatográfica ocorreu em câmara saturada em aproximadamente 15 - 20 minutos.

As lâminas foram retiradas e colocadas para secar a temperatura ambiente por alguns minutos. Foi possível revelar a presença dos lipídeos utilizando iodo sublimável em câmara saturada. Em todas as lâminas foram marcadas as regiões de separação das bandas retirando assim, as bandas de colesterol esterificado e o não-esterificado (extremidade superior), como mostra a Figura 14.

Essas regiões foram raspadas e armazenadas em microtubos com tampa, marca eppendorf, e conservadas em geladeira, para posterior determinação da radioatividade por cintilação líquida, procedimento realizado em cooperação com o Laboratório de Metabolismo de Lipídeos do InCor-HCFMUSP/SP.

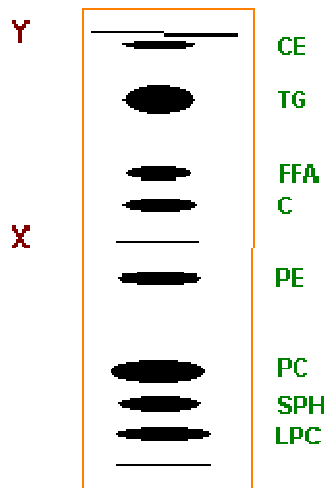


Figura 14: Separação dos lipídios e colesterol sobre placa de vidro com camada de sílica gel 60H (CCD).
 Legenda: CE - colesterol esterificado; TG - triglicerídeos; FFA – ácidos graxos livres; C - colesterol; PE – fosfolípidos (fosfatidil-etanol-amina); PC – fosfatidil-colina

Fonte: CHEDID; HAUX; NATELSON, 1972.

No Laboratório de Metabolismo de Lipídeos do InCor foi determinada a radioatividade contida nas amostras por cintilação líquida (Packard 1600 TR model Liquid Scintillation Analyzer, Palo Alto, CA), utilizando-se as amostras das alíquotas de HDL, oriundas das extrações separadas por CCD contendo moléculas derivadas de colesterol e lipídios.

5.4.2.3 Atividade da Paraoxonase

A atividade da paraoxonase (PON1) foi determinada de acordo com o método descrito por Mackness et al (1998) e Senti et al (2003). Adicionou-se de 140uL de tampão Tris-HCl 0.1M, pH 8.05 contendo 2mmol/L de CaCl₂ e 1.1 mmol/l de paraoxon (Sigma Chemical Co.) a 7uL de soro. A amostra foi distribuída em placa de 96 poços fundo chato em duplicata. A leitura foi feita em comprimento de onda de 405nm e temperatura de 37°C utilizando “Leitor de Microplacas” (Microplate Reader, Benchmark, BIO- RAD). Para cálculo da atividade, foram feitas 6 leituras em intervalo de 1 minuto cada, sendo que o resultado foi obtido multiplicando-se a média da variação das absorbâncias pelo fator.

Fator = $VTR \text{ (ml)} / \epsilon_{405} \times VA \text{ (ml)} \times E \text{ (cm)}$, onde

VTR - Volume total da reação; VA – Volume da amostra; E – Espessura da cubeta;

ϵ_{405} – $1805 \text{ ml}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Logo, atividade da Paraoxonase = Fator x $\Delta\text{abs}/\text{min}$

6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise descritiva dos dados foi realizada a partir da determinação das estimativas de centralidade e dispersão para obtenção de medidas resumo, seguida do teste de normalidade de *Kolmogorov-Smirnov*. Para início das análises estatísticas inferenciais foi realizado o teste de *Grubbs* para a detecção de *outliers*. A estatística inferencial foi seguida de testes paramétricos e/ou não paramétricos em função do tipo de distribuições dos dados em torno da média. Para todos os dados foram considerados significantes as diferenças com nível crítico (p) <0,05 (5%) para intervalo de confiança de 95%. Para a análise dos dados foi utilizado o *Software GraphPad InStat v.3.05*. Os testes estatísticos específicos realizados para os dados das análises do estudo e suas inferências estão citados no Capítulo 8-RESULTADOS.

7. ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do Hospital Maternidade Climério de Oliveira/ UFBA.

Todos os pacientes foram admitidos mediante assinaturas de consentimento livre e informado, obedecendo as recomendações da Resolução nº 196/1996 do Conselho Nacional de Saúde (Apêndice- Protocolo I).

8. RESULTADOS

O grupo analisado foi composto por 66 pacientes com a idade média de $57,5 \pm 15,5$ anos, variando de 20 a 77 anos. A Figura 15 apresenta a distribuição dos participantes e os estratos etários, onde é observada prevalência maior de participantes nas idades de 66-70 anos e > 70 anos. Entretanto, verificou-se que a presença da doença aterosclerótica no sexo masculino ocorre a partir da faixa etária 36-45 anos (Figura 16). Por outro lado, no grupo do gênero feminino, a doença pôde ser detectada a partir das faixas 46-55 anos, elevando-se em ambos os gêneros, conforme o aumento da idade. Não foi observada a doença na primeira faixa etária 20-35 anos em nenhum dos gêneros para os pacientes do estudo.

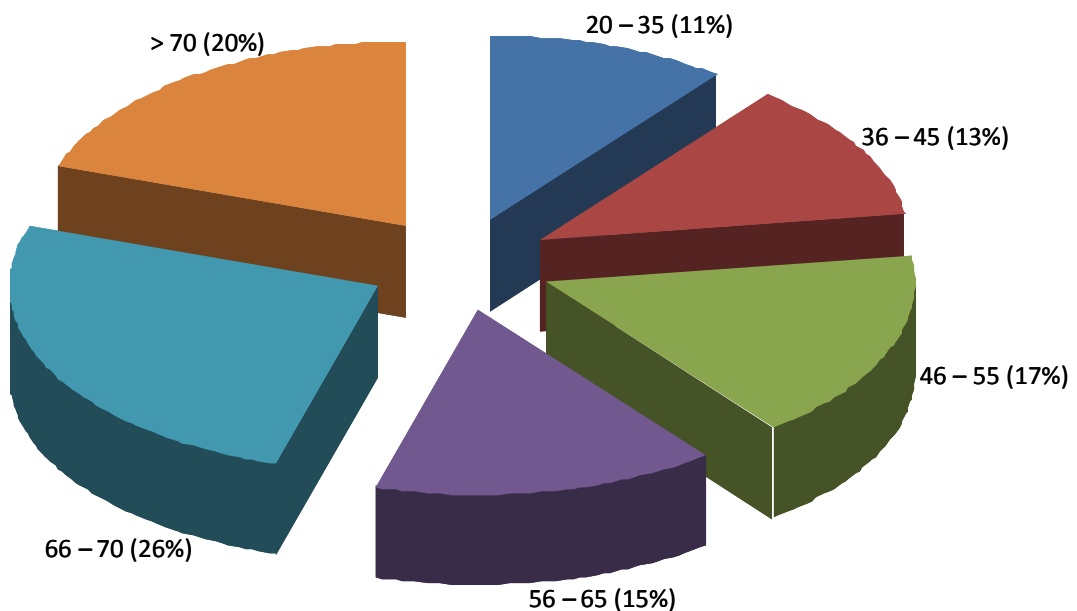


Figura 15. Extratos etários e percentual dos pacientes participantes do estudo.

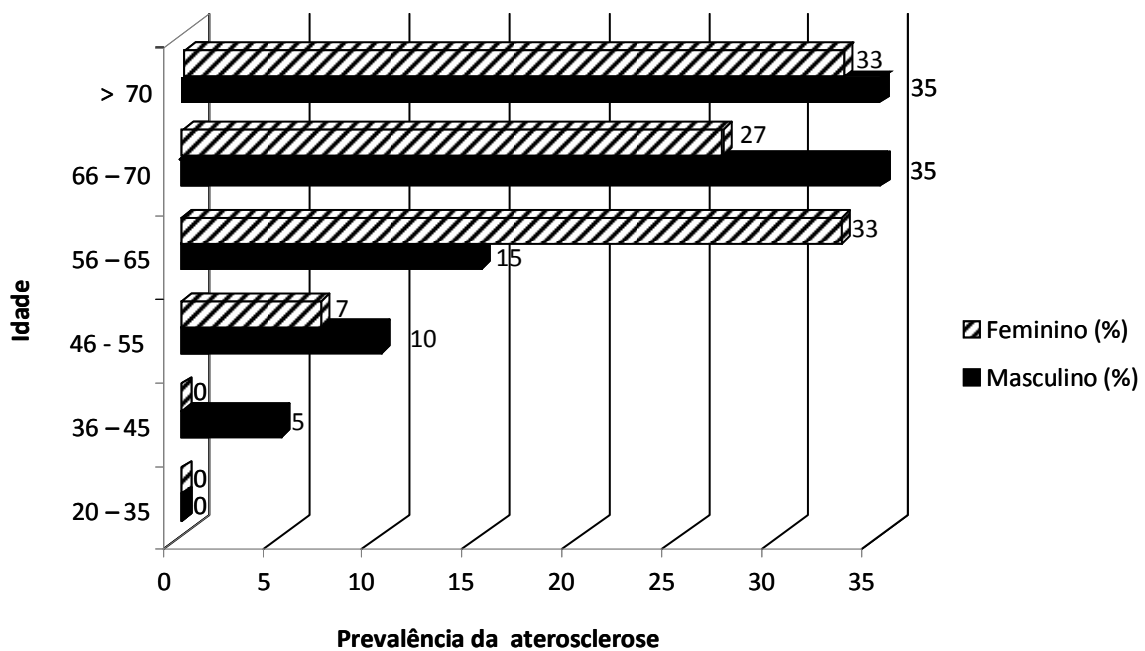


Figura 16. Presença de aterosclerose de carótida segundo faixa etária e sexo. A doença aterosclerótica carotídea teve maior prevalência no gênero feminino, ou seja, 33% contra apenas 15% no gênero oposto (faixa etária de 56-65 anos), mostrando ainda risco relativo de 1,56 para o gênero feminino ($p < 0,002$; teste de Fisher, com aproximação de Katz).

O perfil clínico teve o seguinte resultado: prevalência de 35 (53%) pacientes com doença ateromatosa carotídea; 54 (82%) pacientes estavam em uso de medicação regular para quaisquer das doenças progressivas (HAS, DM, AVE, dislipidemia, hipotireoidismo ou doença coronária); 45 (68%) eram hipertensos; 48 (73%) dislipidêmicos, sendo que desse total, 25 (53%) pacientes apresentaram evidência de doença arterial carotídea associada; 7 (11%) coronariopatas; 3 (4%) apresentaram acidente vascular encefálico e 42 (64%) faziam uso regular de hipolipemiantes.

Foram calculadas as prevalências dos graus de estenose de carótidas dos pacientes avaliados, conforme a classificação de NASCET (1991). Foi constatado que 47% dos pacientes foram classificados Grau I, ou seja, normal (sem placas ateroscleróticas); enquanto que a soma dos casos classificados como Graus II, III e IV totalizaram 53%. Houve predomínio das estenoses leves ($< 50\%$ da obstrução da luz vascular), conforme BARNET et al, (1998) totalizando Grau II e III em 44% do total. Neste estudo não foram observados pacientes classificados como grau V e VI (oclusão).

A realização do teste exato de Fisher entre os graus de estenoses de carótida segundo NASCET e nível de HDL-C ($>$ ou $\leq 40\text{mg/dl}$) não mostrou associação significativa.

Na caracterização do perfil clínico de acordo com o resultado de doppler (Figura 17), nota-se que em todas as doenças associadas, existe a prevalência da doença aterosclerótica; com exceção do hipotireoidismo, onde houve igual prevalência dos pacientes normais e com placas ateroscleróticas.

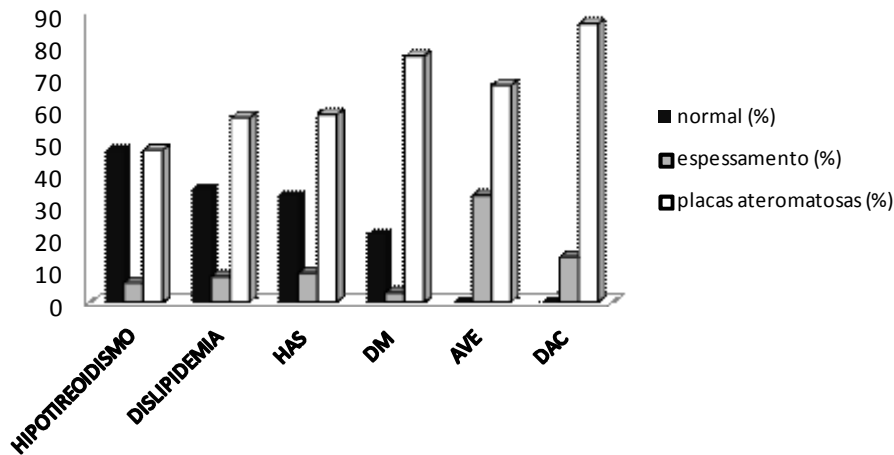


Figura 17. Prevalência de doença aterosclerótica a partir do resultado do doppler relacionada ao perfil clínico dos participantes do estudo. O estudo de associação, teste de Fisher, mostrou existência de diferentes riscos relativos (RR) em função da presença ou não de doença carotídea. Hipotireoidismo (DCA vs NDCA, $p < 0,555$; $RR=1,0$); (DCA vs EMI, $p < 0,0001$; $RR=5,2$); Dislipidemia (DCA vs NDCA, $p < 0,001$; $RR=1,62$); HAS (DCA vs NDCA, $p < 0,003$; $RR=1,76$); DM (DCA vs NDCA, $p < 0,001$; $RR=3,6$); AVE (DCA vs NDCA, $p < 0,0001$; $RR=2,03$); DAC (DCA vs NDCA, $p < 0,0001$; $RR=6,14$).

Em relação à concentração de HDL-C e a classificação do grau de estenose das carótidas, conforme a classificação de NASCET; observamos que do total de 66 pacientes do estudo, 50 (76%) dos envolvidos apresentavam valores de HDL-C dentro da faixa protetora, de acordo com as referências. Dos 31 indivíduos classificados como GRAU I (normal), ou seja, sem doença aterosclerótica, 25 (81%) possuíam HDL sérico $> 40\text{mg/dl}$ em comparação aos 6 (19%) pacientes que tinham níveis de HDL-C $\leq 40\text{mg/dl}$. Nos graus II, III e IV, houve prevalência de concentração sérica de HDL-C $> 40\text{mg/dl}$. Não houve diferença significativa entre as concentrações de HDL-C entre os grupos ($p= 0,4910$, teste t não pareado).

Verifica-se na Tabela 7, a frequência entre atividade física, tabagismo, etilismo com os resultados de doppler de artérias carótidas e vertebrais. Dos 66 (100%) participantes do estudo, 41 (64%) não eram praticantes de atividade física e, deste grupo, 22 (53%) eram portadores de doença de carótida. Foram identificados 22 (33%) pacientes tabagistas, sendo que 10 (45%) eram portadores de doença de carótida. Analisando o fator consumo regular de bebidas alcoólicas foram encontrados 7 (11%) indivíduos e deste, apenas 3 (4%)

apresentavam doença aterosclerótica. Dentre os sedentários, tabagistas e que apresentaram evidências de doença arterial de acordo resultado do doppler, foram identificados 10 (15%) pacientes. No estudo foram pacientes com doença aterosclerótica associada com sedentarismo, tabagismo e etilismo concomitantes.

TABELA 7. Histórico Social dos pacientes participantes do estudo.

VARIÁVEL	ABSOLUTO	RELATIVO (%)
N	66	100
Atividade Física	25	38
Atividade Física e aterosclerose	13	52
Sedentarismo	41	62
Sedentarismo e aterosclerose	22	54
Tabagismo	22	33
Tabagismo e aterosclerose	10	45
Sedentarismo, tabagismo e aterosclerose	10	15
Consumo regular de alcoólicos (CRA)	7	11
CRA e aterosclerose	3	4
Sedentarismo, tabagismo, CRA e aterosclerose	0	0

TABELA 8. Índices de Castelli I, Castelli II e Gazziano, medidas de centralidade e dispersão dos indicadores calculados.

Índice	(n)	Média	SD	P*
Castelli I				
Normal	34	3,4	1,4	0,992
DAC	32	3,4	1,0	
Castelli II				
Normal	34	1,9	1,2	0,303
DAC	32	1,7	0,7	
Gazziano				
Normal	31	2,7	1,814	0,406
DAC	35	2,9	2,806	

* Teste t Student com SD desiguais.

A avaliação dos dados de colesterol livre, a partir da CCD, e total de colesterol marcado na fração HDL diferiu entre os grupos estratificados HDL-C maior e menor do que 40mg/dl e, para as condições DCA e sem DCA ($p = 0,0409$ e, $p = 0,0475$ teste t), respectivamente (Tabela 9). Por outro lado, o percentual de esterificação não diferiu entre os grupos. A análise de correlação linear de Pearson entre os dados de atividade de PON1 quando HDL-C < 40mg/dl e incorporação de colesterol livre e, também entre percentual (%)

de esterificação CL/CE foi significativa ($r = -0,6$; $p = 0,048$; $n = 20$ e $r = -0,7$; $p = 0,006$; $n = 12$), respectivamente. Não foi observada significância na análise de correlação linear entre a atividade de PON1 e esterificação e, diferença para as atividades de PON1 quando estratificada para HDL-C $> e <$ do que 40mg/dl (Tabela 10).

TABELA 9. Dados de incorporação de CL, CL+CE em CPM e percentual de esterificação em função das concentrações de HDL-C $> e <$ 40mg/dl e por grupo sem e com doença carotídea (DCA).

<i>PARÂMETROS</i>	<i>MÉDIA</i>	<i>EPM</i>	<i>(n)</i>	<i>p</i>
HDL-C > 40mg/dl	47	0,84	29	
3H-CL	258,88*	-	-	0,0409*
% Est. CL/CE	0,15 ^x	-	-	0,0646 ^x
HDL-C ≤ 40mg/dl	35	1,59	08	
3H-CL	563,97*	-	-	
% Est. CL/CE	0,54 ^x	-	-	
<hr/>				
Sem DCA	-	-	23	
3H-CL + CE	289794*	41443	-	0,0475*
% Est. CL/CE	0,24 ^x	0,05481	-	0,0531 ^x
Com DCA	-	-	16	
3H-CL + CE	188960*	37670	-	
% Est. CL/CE	0,49 ^x	0,1274	-	

*^x Teste t Student com SD desiguais. Dimensão dos dados em contagens por minuto (CPM); contagem de 3H-CL obtido após CCD. % Est. CL/CE: percentual de esterificação.

TABELA 10. Estimativas dos dados das atividades de PON1 para HDL-C $> e <$ 40mg/dl.

<i>PARÂMETROS</i>	<i>MÉDIA</i>	<i>50th</i>	<i>SD</i>	<i>(n)</i>	<i>p*</i>
*PON1 > 40 mg/dl	108,6505	115,4600	46,05	29	0,1704
*PON1 ≤ 40 mg/dl	93,9108	98,1450	32,84	08	

* A atividades de PON1 tem como dimensão (unidade) $nMolm^{-1}$; Teste t de Student.

9. DISCUSSÃO

A seleção dos pacientes do estudo foi realizada por conveniência, a partir do ambulatório geral em população de militares da ativa e da reserva e seus dependentes. A distribuição dos participantes por estrato etário mostrou prevalência maior de participantes com idade superior a 65 anos, a população mais jovem teve menor frequência no ambulatório, o que é de se esperar, caracterizando comportamento habitual, independente de ser a população composta por militares ou não (MENDONZA-SASSI & BÉRIA, 2001). A população amostrada, verificou-se que a presença de doença aterosclerótica no sexo masculino ocorreu a partir da faixa etária 36-45 anos, embora a doença aterosclerótica possa ser observada a partir da segunda década de vida (SANTOS et al, 2008), por outro lado, no grupo do gênero feminino, a doença pode ser detectada a partir das faixas 46-55 anos, elevando-se em ambos os gêneros conforme aumento da idade. Neste estudo não foi observada doença aterosclerótica carotídea na primeira faixa etária (20-35 anos) em nenhum dos gêneros. Na aterosclerose de carótida, o estudo de Framingham mostrou prevalência de estenose $\geq 50\%$ para a população acima de 65 anos (7% em gênero feminino e 9% em gênero masculino) (PAULETTO et al, 1994). No presente estudo, foi evidenciada prevalência geral de 53% para estenoses de grau II, III e IV, classificadas como estenoses leves e moderadas. Dessas 47% com grau I, 44% de graus II e III, e 9% grau IV, ou seja, estenoses leves e moderadas da luz vascular. Não foram observados pacientes classificados como grau V e VI (oclusão). Conforme mostra a Figura 16, a doença aterosclerótica carotídea teve maior prevalência no sexo masculino (36/45anos; 46/55anos; 66/70 anos e maior do que 70 anos), entretanto, isso não foi observado na faixa etária de 56 a 65 anos no presente estudo, pois a prevalência observada no gênero feminino foi 33% contra apenas 15% no gênero oposto, mostrando ainda risco relativo de 1,56 para o gênero feminino nessa faixa etária ($p < 0,002$; teste de Fisher, com aproximação de Katz). Transversalmente, a transição da menopausa tem sido associada com níveis de doença subclínica, medida tanto por espessamento médio-intimal carotídeo e pela distensibilidade arterial (STAESSEN et al, 2001).

Ainda, na doença subclínica durante a transição da menopausa observa-se que a concentração de LDL-C tem seus valores plasmáticos aumentados enquanto a concentração de HDL-C diminui (MATTHEWS et al, 1989). Essas alterações do perfil lipídico podem ser estimadas a partir da utilização de indicadores (razões) e marcadores de processos inflamatórios, como a utilização da PCR-as e a razão TG/HDL-C (VIEIRA & COUTO, 2011). Ainda nesse grupo de mulheres da mesma faixa etária, comparando os dados deste estudo, foram observados aumento da presença da doença relativa a progressão da EMI. Conforme

WILDMAN et al, (2004) estes dados também podem documentar o efeito esperado da menopausa, com progressão maior de doença subclínica entre as mulheres que estavam em transição para a perimenopausa ou pós-menopausa. Os resultados relatados aqui para perimenopausa e pós-menopáusicas são consistentes com resultados do estudo Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC). Nesse estudo, ARIC (idade 45 a 64 anos), a progressão média anual da EMI foi de 0,0086 milímetros entre as mulheres e 0,0091 milímetros entre os homens. No presente estudo o valor médio do EMI foi de $0,083 \pm 0,029$. Portanto, a transição da menopausa pode estar relacionada com a progressão acelerada da aterosclerose subclínica e diagnosticada através de efeitos diretos da mudança hormonal, perfil lipídico e alteração da vasculatura. A diferença entre gêneros também é mostrada em estudos populacionais, onde nos homens incidência foi quatro vezes maior para o primeiro AVE devido a aterosclerose de grandes vasos, do que nas mulheres (BEHRENDT & GANZ, 2002).

Segundo Kapral et al (2009), a frequência de endarterectomia de carótida é menor no gênero feminino quando comparado ao masculino, porém não se sabe por certo se a diferença está relacionada ao tipo de triagem, prevalência da doença ou outros fatores. Observou-se que as mulheres são menos submetidas ao exame de imagem de carótida em relação aos homens (6.389 pacientes, 48%, mulheres, $p < 0,0001$) e, mostrando também menos estenose de carótida quando comparadas aos homens (7,4% versus 11,5%, $p < 0,0001$). O estudo de KAPRAL (2009), não evidenciou diferença para o subgrupo estenose grave (odds ratio 0,75; 95% intervalo de confiança 0,49 a 1,15). Neste estudo não foram observados pacientes com esses tipos de graus de estenose (graus V e VI conforme o estudo de NASCET).

Em relação ao perfil clínico, casuística do presente estudo, 54 pacientes estavam em uso de medicação regular para quaisquer das doenças progressas (HAS, dislipidemia, DM, AVE, hipotireoidismo ou doença coronária), 42 faziam uso de medicação hipolipemiante (estatinas, fibratos ou associações de ambos) e 35 pacientes apresentavam doença ateromatosa carotídea (Figura 17). Segundo Park et al, 2003, preditores modificáveis como hipertensão arterial, tabagismo e diabetes são bem estabelecidos como fatores de risco para doença aterosclerótica carotídea em vários estudos. No estudo de Framingham, fatores de risco independentes também foram relacionados à aterosclerose de carótidas como idade, tabagismo, pressão arterial sistólica, dislipidemia, consumo de álcool significativo em homem (ASAHARA et al, 1999). Em alguns estudos, a duração do período de fumo tem mostrado ser um preditor independente da presença de aterosclerose em carótidas, superando os efeitos da hipertensão e diabetes (LEMOS et al, 2004). A presença de fatores de risco e a severidade

desses fatores de risco impactam na progressão da doença arterial de carótidas. O grau de diabetes e hipertensão e, da mesma maneira, o controle da doença podem influenciar a progressão da doença aterosclerótica (SERRUYS et al, 2005).

A maioria dos estudos sobre os fatores de risco relacionados com AVE indicam que níveis séricos elevados de colesterol aumentam ligeiramente o risco de se desenvolver AVE do tipo isquêmico entretanto, para alguns autores não é comum a aceitação de dislipidemia como um fator de risco para o desenvolvimento de AVE. Contudo, ela pode estar correlacionada com o aumento do colesterol no organismo humano (ARAÚJO et al, 2008). Na coorte de Framingham, para a faixa etária maior do que 65 anos (1.189 indivíduos), não houve associação entre o nível de colesterol e estenoses de carótidas, tendo como referência medida pontual isolada, porém houve associação significativa entre estenose de carótidas e colesterol total quando avaliadas medidas durante período de oito anos a partir do início do estudo, sugerindo que a dislipidemia pode ter um impacto retardado na aterosclerose de carótidas quando comparada a aterosclerose coronária. A realização do teste exato de Fisher entre os graus de estenoses de carótida segundo NASCET e nível de HDL-C ($>$ ou \leq 40mg/dl) não mostrou associação significativa. Em relação aos resultados de doppler este estudo, observamos que em todas as doenças associadas, existe a prevalência da doença aterosclerótica ($p < 0,05$, Fisher), com exceção do hipotireoidismo, onde houve igual prevalência dos pacientes normais e com placas ateroscleróticas. Por outro lado, quando avaliamos a relação DCA versus EMI no hipotireoidismo, o resultado foi bastante significativo ($p < 0,0001$; RR=5,2; teste de Fisher). Alguns estudos relacionando disfunção tireoidiana e EMI carotídea já foram realizados, porém, com resultados controversos. NAGASAKI et al (2003), avaliou 35 pacientes com hipotireoidismo manifesto e 35 controles. A medida da EMI nas carótidas comuns dos pacientes foi $0,635 \pm 0,018$ mm e a dos controles, $0,559 \pm 0,021$ mm, ($p < 0,005$; teste t não pareado). Entretanto, é importante ressaltar que os pacientes apresentavam alterações metabólicas, 62 sabidamente envolvidas no desenvolvimento de lesões ateroscleróticas (as médias de CT e de LDL-C das pacientes eram estatisticamente mais elevadas do que as dos controles, $p=0,04$; teste t não pareado). MONZANI et al (2004), relata resultados semelhantes ao avaliar 45 indivíduos com hipotireoidismo subclínico e 32 controles pareados por sexo, idade e IMC. Entretanto em pacientes com hipotireoidismo subclínico leve, sem alterações metabólicas, não apresentavam aumento da medida da EMI carotídea e, conseqüentemente, do risco cardiovascular.

Os achados laboratoriais utilizando os índices de Castelli I e II não corroboram os dados de DCA, pois estão abaixo dos valores preconizados como risco, ou seja, Castelli I

menor do que cinco para homens e menor do que 4,4 para mulheres e, Castelli II, menor do que 3,3 para homens e menor do que 2,9 para mulheres (Tabela 8). A estratificação por sexo, Castelli I entre os pacientes sem DCA, também não mostrou diferença ($p=0,2169$; teste t não pareado). O grupo com DCA mostrou o mesmo comportamento ($p= 0,1509$; teste não pareado com SD desiguais). A comparação entre os grupos sem DCA e com DCA para o mesmo índice, considerando ambos os sexos, também foi não significativa ($p= 0,8464$ e $0,5167$; teste t não pareado), respectivamente. A comparação entre os índices de Castelli II também não mostrou significância ($p > 0,05$). A não significância dos índices de Castelli I e II entre os grupos sem e com DCA se dá provavelmente em função da utilização de hipolipemiantes, relativo a modificações na concentração de colesterol total e LDL-C (PESARO et al, 2011). Já o índice de Gazziano, razão TG/HDL-C, que estima a presença de LDL pequena e densa, o nosso estudo mostra tanto na população sem DCA quanto com DCA razões que apontam para a presença de partículas lipoprotéicas inferiores a 25nm (MARUYAMA et al, 2003; VIEIRA et al, 2011). Não houve diferença significativa para a razão TG/HDL-C entre os grupos, embora para o sexo masculino sem e com DCA os dados apresentaram tendência ($p= 0,0596$, teste t não pareado).

Os trabalhos de transferência de colesterol e sua esterificação vêm sendo desenvolvidos por grupos que utilizam partículas artificiais como moduladoras do processo de cinética de transferência de moléculas entre as lipoproteínas (MARANHÃO et al, 1986). Por outro lado, existe a possibilidade de utilizar moléculas marcadas isotopicamente, como na técnica de substrato exógeno descrita por STOKKE & NORUM, (1971), onde a adição de colesterol livre ou esterificado e fosfolipídios marcados com trítio ou carbono 14 associados à albumina podem ser utilizados para avaliar mecanismos de incorporação, transferência e esterificação do colesterol, fenômenos esses utilizados principalmente para avaliar o transporte reverso do colesterol e remodelamento de partículas de HDL. Neste estudo, a avaliação dos dados de incorporação de colesterol livre e esterificação, a partir do método de substrato exógeno modificado, diferiram entre os grupos estratificados por concentração de colesterol de HDL maior ou menor do que 40mg/dl ($p = 0,0409$, teste t não pareado) (Tabela 9). Estudo em modelo animal realizado por OLIVEIRA et al (2011), mostrou que o enriquecimento da dieta com colesterol modifica o perfil lipídico em relação ao grupo controle. Nesse caso, observou-se que a transferência de colesterol tanto livre quanto esterificado foi maior no grupo com dieta rica em colesterol. O estudo não levou em conta a quantidade de partículas lipoproteicas de HDL aceptora, o que, em termos de equilíbrio de massas e biofísica de partículas, o grupo alimentado com altas doses de colesterol deve ter por

unidade de área (quantidade de plasma) maior quantidade de partículas aceptoras de colesterol e por isso mais capacidade de receber colesterol, conforme em modelo celular encontrado por Uint et al (2003). O estudo de Oliveira et al (2011) mostra ainda que a partícula de HDL é o local onde o colesterol livre é armazenado no plasma na forma esterificada. No nosso estudo, os dados de colesterol livre marcado na partícula de HDL, fração obtida após CCD, também diferiram entre os grupos estratificados para as condições DCA e sem DCA ($p = 0,0475$; teste t) (Tabela 9). Os dados relativos à presença e ausência de DCA estratificados por concentração de HDL-C não mostraram significância. O resultado obtido dessa estratificação teve sua interpretação prejudicada em função do pequeno número de pacientes com HDL-C igual ou inferior a 40mg/dl (sem DCA, $n=6$ e, com DCA, $n=4$). A análise de correlação linear de Pearson entre os dados de atividade de PON1 quando HDL-C < 40mg/dl e incorporação de colesterol livre e, também entre percentual (%) de esterificação CL/CE foi significativa ($r = -0,6$; $p = 0,048$; $n = 20$ e $r = -0,7$; $p = 0,006$; $n = 12$), respectivamente. O que parece lógico, pois, partículas menores, perfil aterogênico comumente presente na DAC (LIMA & COUTO, 2006; VIEIRA et al, 2011), possuem maior capacidade acceptora de colesterol livre e esterificação e, menor atividade da paraoxonase, em função, provavelmente da redução proporcional de apo A1, dado esse não determinado no presente estudo. Não foi determinado o *clearance* de colesterol marcado neste estudo, por se trata de estudo *in vitro*, porém, Pinto et al (2001) mostraram que a taxa fracional de remoção plasmática de uma emulsão artificial marcada com ^{14}C (colesterol ester) diminuiu em função do avanço da idade dos pacientes estudados. O aumento da permanência das partículas no compartimento plasmático (maior tempo de residência) corrobora em parte com a esterificação, pois, aumenta o contato entre as lipoproteínas (maior taxa de transferência) (SANTOS et al, 2003) e, em função disso, cria ambiente pro – aterogênico (LIMA & COUTO, 2006; VIEIRA et al, 2011). No caso do colesterol livre a transferência para HDL e a captação nos tecidos é maior do que a do colesterol esterificado, este, marcador de remoção das partículas lipoprotéicas (COUTO et al, 2007). Em relação aos dados do grupo HDL-C > 40mg/dl assim como para as atividades de PON1 entre os grupos (HDL-C, > e < do que 40mg/dl) não foram observadas associações significativas (Tabela 10), conforme achados de KABAROGLU et al, (2004) a atividade da PON1 não está relacionada à concentração de colesterol na HDL.

Dos hipolipemiantes em uso a sinvastatina foi a medicação mais frequente, na concentração 20-40mg/V.O./dia preferencialmente à noite. Nesse estudo o foco em questão foi avaliar a incorporação do colesterol livre, esterificação e transferência na e para as partículas de HDL na presença e ausência de DCA, como marcadores de risco na avaliação do

metabolismo da HDL. Conforme diversos estudos (PUK et al, 2009; PESARO, et al, 2011) o hipolipemiante, nesse caso a sinvastatina, pode ter influenciado a incorporação e transferência, porém, minimamente, pois, as estatinas embora influenciem a redução significativa do colesterol total e do LDL-C não modificam a ponto de influenciar a HDL em seu remodelamento (PESARO et al, 2011), não havendo também paciente participante do estudo com níveis de HDL-C isoladamente baixos em uso de ácido nicotínico, hipolipemiante esse que eleva significativamente a concentração de colesterol na HDL, assim como, não modifica a atividade da PON1 (PUK, et al, 2009; AZEVEDO et al, 2011), ainda nesse modelo onde os pacientes já faziam uso contínuo da medicação a bastante tempo, não foi possível por questões éticas descontinuar a terapêutica.

9.1 Limitações do estudo

Este estudo apresenta limitações inerentes ao próprio delineamento do estudo transversal: impossibilidade de estabelecer relações causais por não provarem a existência de uma sequência temporal entre exposição ao fator e o subsequente desenvolvimento da doença, só poder medir a prevalência, e não a incidência, tornando limitada a informação produzida no que respeita à história natural das doenças e ao seu prognóstico; são susceptíveis aos chamados vieses de prevalência/incidência que acontecem quando o efeito de determinados fatores relacionados com a duração da doença é confundido com um efeito na ocorrência da doença; dificuldade para investigar condições de baixa prevalência, já que isto implicaria o estudo de uma amostra relativamente grande, devido ao fato de a exposição e o desfecho serem coletados em um único momento no tempo, fazendo-se mais difícil estabelecer uma relação temporal entre os eventos e considerar com maior grau de certeza se a relação entre eles é causal ou não.

Apesar de ser utilizada uma população estável e cooperativa de militares e seus dependentes, a fim de minimizar perdas de seguimento e recusas em participar, tivemos falha de seguimento no tocante ao retorno dos pacientes para a realização do exame de ecografia vascular, tanto quanto na dificuldade de comunicação como no retorno ao ambulatório específico de exames de imagem e coleta de sangue.

A necessidade de uma estrutura minuciosa, de custo elevado e com cronologia determinada, com necessidade de transporte das amostras para outra instituição na Região Sudeste (*Incor- HCFMUSP*), conferiu limitação do número de indivíduos estudados com perda por derramamento de material biológico, com limitação de quantidade e número de indivíduos e isso interferindo nos resultados, sobretudo no que se refere a demonstrar

pequenas diferenças e significância estatística em relação ao grupo sem uso de hipolipemiantes e atividade da PON para poder também melhorar a estratificação entre os grupos.

As limitações também foram decorrentes da técnica de realização da ecografia e função vasomotora das artérias carótidas e vertebrais, por se tratar de um exame dependente da qualidade das imagens, do observador e de variações biológicas e de falta de software que delimite de forma automática o EMI, com menor variação de erro. Procurou-se minimizar tais limitações através da realização dos exames por único tipo de aparelho, de mesma marca e modelo, assim como um único realizador de exames, seguindo o *ASE CONSENSUS STATEMENT Use of Carotid Ultrasound to Identify Subclinical Vascular Disease and Evaluate Cardiovascular Disease Risk* (STEIN et al, 2008).

10. CONCLUSÃO

- Não foi observada doença carotídea ateromatosa até o meio da terceira década de vida em ambos os gêneros. A DCA se deu com o aumento da idade conforme literatura em ambos os sexos, porém, com a precocidade de uma década da doença no sexo masculino;
- O gênero feminino teve maior prevalência de DCA na faixa etária de 56-65 anos com risco relativo 1,56.
- Foi constatado DCA em metade dos pacientes na forma de estenoses carotídeas leves e moderadas. Não se observou estenose severa ou oclusão.
- Houve prevalência de DCA a partir do perfil clínico dos participantes do estudo, com elevação do risco relativo para DCA na presença das doenças de base identificadas.
- Houve menor incorporação de 3H-CL na HDL do grupo DCA. Esse achado mostra que o transporte reverso está prejudicado neste grupo.
- A análise de correlação linear de Pearson entre os dados de atividade de PON1 quando $\text{HDL-C} < 40\text{mg/dl}$ versus incorporação de colesterol livre e, também entre percentual de esterificação CL/CE foi significativa. Embora a concentração de colesterol da HDL não influencie a atividade de PON1, observamos que quanto maior a incorporação e o percentual de esterificação do colesterol livre, tanto menor foi a atividade da PON1.

11. PERSPECTIVAS FUTURAS

Avaliar a influência de hipolipemiantes sobre a transferência de colesterol das lipoproteínas para HDL na aterosclerose de carótidas, a partir da avaliação de grupos, com e sem utilização de hipolipemiantes, determinar LDLox, tamanho de partícula de HDL e repetir atividade de paraoxonase

REFERÊNCIAS

- AASLID, R; NEWELL, DW. Transcranial doppler. New York: Raven Press, 1992: 1-277.
- ADKINS, S; GAN, KN; MODY, M; LADU, BN, 1993. Molecular basis for the polymorphic forms of serum paraoxonase/arylesterase: Glutamine or Arginine at position 191, for the respective A or B allozymes. *Am.J.Hum.Genet.*, 52: 598-608.
- AHARONI, A; TAWFIK, DS. Directed Evolution of Recombinant Serum Paraoxonase (PON) Variants. *Discov Med.* 2004 Apr; 4(21):120-4.
- AMBROSE, JA; TANNENBAUM, MA; ALEXOPOULOS, D; HJEMDAHL-MONSEN, CE; LEAVY, J; WEISS, M et al. Angiographic progression of coronary artery disease and the development of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1988;12: 56- 62.
- ANDERSON, KM; ODELL, PM; WILSON, PWF; KANNEL, WB. Cardiovascular disease risk profiles. *Am Heart J.* 1990; 121: 293–8.
- Antiplatelet Trialists' Collaboration (ATC) - Collaborative overview of randomized trials of antiplatelet therapy: I. Prevention of death, myocardial infarction, and stroke by prolonged antiplatelet therapy in various categories of patients. *BMJ* 1994; 308: 81-106.
- Antithrombotic Trialists' Collaboration (ATC). Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ* 2002;324:71-86.
- ARAÚJO, F. et al. 2007. Aumento do Índice de Massa Corporal em Relação a Variáveis. *Arq Bras Cardiol*; 88 (6): 624-629.
- ASAHARA, T; MASUDA, H; TAKAHASHI, T et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res.* 1999; 85: 221-8.

- ATMEH; ABD ELRAZEQ, IO. Small high density lipoprotein subclasses:some of their physico-chemical properties and stability in solution. *Acta Biochim Pol.*, v. 52, p. 515-525, 2005.

- AVIRAM, M; ROSENBLAT, M; BISGAIER, CL; NEWTON, RS; PRIMO-PARMO, SL; LA DU, BN. Paraoxonase Inhibits High-density Lipoprotein Oxidation and Preserves its Functions - A Possible Peroxidative Role for Paraoxonase. *J. Clin. Invest.*, 1998; 101, (8):1581–1590.

- BARNETT, HJ; TAYLOR, W; ELIASZIW, M; FOX, AJ; FERGUNSON, GG; HAYNES, RB; RANKIN, RN; CLAGETT, GP; HACHINSKY, VC; SACKETT, DL; THORPE, KE; MELDRUM, HE for the North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET) Collaborators. Benefit of carotid endarterectomy in patients with symptomatic moderate or severe stenosis. *N Engl J Med* 1998;339; 1415-25.

- BARTER, P; KASTELEIN, J; NUNN, A; HOBBS, R. High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions. *Atherosclerosis.*, v.168, p.195-211, 2003.

- BATLOUNI, M – *Farmacologia e Terapêutica Cardiovascular – 1ª edição*- Editora Atheneu – São Paulo – 1999.

- BEEBE, HG; CLAGETT, GP; DEWEESE, JA et al. Assessing risk associated with carotid endarterectomy. A statement for health professionals by an Ad Hoc 30 Committee on Carotid Surgery Standards of the Stroke Council, American Heart Association. *Circulation*, 79, 2, 472-473, 1989.

- BEHRENDT, D; GANZ, P. Endothelial function: From vascular biology to clinical applications. *American Journal of Cardiology*. Volume 90, Issue 10, Supplement 3, Pages L40-L48, 21 November 2002

- BENAVENTE, O; MOHER, D; PHAM, B. Carotid endarterectomy for asymptomatic carotid stenosis: a meta-analysis. *BMJ* 1998; 317:1477-80.

- Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with highgrade carotid stenosis. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET) Collaborators. *N Engl J Med*, 325, 7, 445-453, 1991.
- BENNET, CL; CONNORS, JM; CARWILE, JM et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with clopidogrel. *N Engl J Med* 2000; 342: 1773-1777.
- BERENSON, GS; SRINIVASAN, SR; BAO, W; NEWMAN, WP; 3rd TRACY, RE; WATTIGNEY, WA. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The Bogalusa Heart Study. *N Engl J Med*. 1998; 338:1650-6.
- BERLINER, JA; NAVAB, M; FOLMAN, AM et al. Atherosclerosis: basic mechanisms, oxidation, inflammation and genetic. *Circulation* 1995; 91:2488- 96.
- BERTRAND, ME; RUPPRECHT, HJ; URBAN, P et al. Double-Blind Study of the Safety of Clopidogrel With and Without a loading dose in Combination With Aspirin Compared With Ticlopidine in Combination With Aspirin After Coronary Stenting- The Clopidogrel Aspirin Stent International Cooperative Study (CLASSICS). *Circulation* 2000; 102: 624-629.
- BEVILAQUA, MP. Endothelial - leukocyte adhesion molecules. *Annu Rev Immunol* 1993; 11:767-804.
- BILLER, J; THIES, WH. When to operate in carotid artery disease. *Am Fam Physician* 2000; 61:400-6.
- BLATTER, MC; JAMES, RW; MESSMER, S BARJA, F; POMETTA, D, 1993. Identification of a distinct human high-density lipoprotein subspecies defined by a lipoprotein-associated protein, K-85: identity of K-85 with paraoxonase. *Eur. J. Biochem.*, 211: 871-879.
- BRONNER, LL; KANTER, DS; MANSON, JE. Primary prevention of stroke. *New Engl J Med* 1995; 333:1392-1400.

- CALLOW, AD. Historical Review. In: Wilkins, W. Surgery of the carotid and vertebral arteries for the prevention of stroke. Media, PA. 1996.

- CAPRIE Steering Committee. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischemic events (CAPRIE). *Lancet* 1996; 348: 1329-1339.

- CARREA, RM; MURPHY, G. Surgical treatment of spontaneous thrombosis of the internal carotid artery in the neck. Carotid-carotideal anastomosis. Report a case . *Acta Neurol Latinoamer*, 1, 71-78, 1955.

- CARVALHO, ACA; OLIVEIRA, LSAF; MELO, DP; CRUSOÉ-REBELLO, I; CAMPOS, PCF. Desenvolvimento de placas de ateroma em pacientes diabéticos e hipertensos. *R. Ci. méd. biol.* 2010; 9(Supl.1):73-77.

- CAST (Chinese Acute Stroke Trial) Collaborative Group. CAST - randomised placebo-controlled trial of early aspirin use in 20000 patients with acute ischemic stroke. *Lancet* 1997; 349: 1641-1649.

- CHAMBERS, BR; YOU, RX; DONNAN, GA. Carotid endarterectomy for asymptomatic carotid stenosis (Cochrane review). In: *The Cochrane Library*, Issue 4, 2000.

- CHANG, C; DONG, R; MIYAZAKI, A; SAKASHITA, N; SHANG, Y; LIU, J; GUO, M; LI, BL; CHANG, TY. Human acyl-coA: cholesterol acyltransferase (ACAT) and its potential as a target for pharmaceutical intervention against atherosclerosis. *Acta Biochem. Biophys. Sinica*. v.38, p. 151-156, 2006.

- CHANNON, KM; CLEGG, RJ; BHATNAGAR, D; ISHOLA, M; ARROL, S; DURRINGTON, PN. Investigation of lipid transfer in human serum leading to the development of an isotopic method for the determination of endogenous cholesterol esterification and transfer. *Atherosclerosis* - January 1990 (Vol. 80, Issue 3, Pages 217-226)

- CHAPMAN, MJ; GOLDSTEIN, S; LAGRANGE, D; LAPLAUD, PM. A density gradient ultracentrifugal procedure for the isolation of the major lipoprotein classes from human serum. *J Lipid Res.*, v. 22, p.339-358, 1981.

- CHEDID, A; HAUX, P; NATELSON, S. Use of Thin-Layer Chromatography on Silica Gel for Serum Lipid Fractionation and Measurement in the Routine Clinical Laboratory 1972. *Clinical Chemistry*, Vol 18, 384-390

- CHEQUER, G; NASCIMENTO, BR; NAVARRO, TP; FALQUETO, EB; ALENCAR, MCN; DE MIRANDA, MCR; MANDIL, A; SAAD,JA; FONSECA, C; RIBEIRO, ALP. Espessamento Médio-Intimal da Carótida e Função Endotelial na Doença Arterial Coronariana. 2006, *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* - Volume 87, Nº 2.

- CINA, CS; CLASE, CM; HAYNES, RB. Carotid endarterectomy for symptomatic carotid stenosis (Cochrane review). In: *The Cochrane Library*, Issue 4, 2000.

- CONROY, RM; PYORALA, K; FITZGERALD, AP; SANS, S; MENOTTI, A; De BACKER, G; De BACQUER, D; DUCIMETIERE, P; JOUSILAHTI, P; KEIL, U; NJOLSTAD, I; OGANOV, RG; THOMSEN, T; TUNSTALL-PEDOE, H; TVERDAL, A; WEDEL, H; WHINCUP, P; WILHELMSSEN, L; GRAHAM, IM. SCORE Project Group. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: The SCORE Project. *Eur Heart* 2003; 24:987–1003.

- COSTA, LG; COLE, TB; JARVIK, GP; FURLONG, CE, 2003. Functional genomics of the Paraoxonase (PON1) Polymorphisms: effects on pesticide sensitivity, cardiovascular disease, and drug metabolism. *Annu. Ver. Med.*, 54:371-92.

- COUTO, AA. *Farmacologia Cardiovascular Aplicada à Clínica* - 2ª. Edição - Revinter – Rio de Janeiro - 1998 .

- COUTO RD, DALLAN LA, LISBOA LA, MESQUITA CH, VINAGRE CG, MARANHÃO RC. Deposition of free cholesterol in the blood vessels of patients with coronary artery disease: a possible novel mechanism for atherogenesis. *Lipids*. 2007;42(5):411-8.

- CRAVEN, TE; RYU, JE; ESPELAND, MA et al - Evaluation of the associations between carotid artery atherosclerosis and coronary artery stenosis. A case-control Study. *Circulation*, 1990; 82:1230-42.

- CROUSE, JR; TOOLE, JF; MCKINNEY, WM et al - Risk factors for extracranial carotid artery atherosclerosis. *Stroke*, 1987; 18: 990-6.

- CROUSE JR, III; CRAVEN, TE; HAGAMAN, AP et al. Association of coronary disease with segment-specific intimal-medial thickening of the extracranial carotid artery. *Circulation*. 1995;92:1141-7.

- DA LUZ, PL; BERTINI, PJ; FAVARATO, D; Non invasive detection of coronary artery disease – Challenges for prevention of disease and clinical events. *Clinics* 2005; 60:415-428.

- DA LUZ, PL; LAURINDO, RM; CHAGAS, ACP. *Endotélio e doenças cardiovasculares*. Atheneu; São Paulo; 2003.

- DAMINELLI, EM; SPADA, C; TREITINGER, A; OLIVEIRA, TV; LATRILHA, MC; MARANHÃO, RC. Alterations in lipid transfer to High-Density Lipoprotein (HDL) and activity of paraoxonase-1 in HIV+ patients. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, São Paulo*, v. 50, n. 4, Aug. 2008.

- DAS, MB; HERTZER, NR; RATLIFF, NB et al. Recurrent carotid stenosis. A five-year series of 65 reoperations. *Ann Surg*, 202, 1, 28-35, 1985.

- DAVIS, PF; MUNDEL, T; BARBEE, KA. A mechanism for heterogeneous endothelial responses to flow *in vivo* and *in vitro*. *J Biochem* 1995; 28: 1553–1560.

- DIENER, HC; CUNHA, L; FORBES, C et al- European Stroke Prevention Study: II, Dipyridamole and acetylsalicylic acid in the secondary prevention of stroke. *J Neurol Sci* 1996; 143:1-13.

- DIETHRICH, EB; MARX, P; WRASPER, R et al. Percutaneous techniques for endoluminal carotid interventions. *J Endovasc Surg*, 3, 2, 182-202, 1996.

- DIJK J M; van der G, Y; BOTS, ML; GROBBEE, DE; ALGRA, A. Carotid intima-media thickness and the risk of new vascular events in patients with manifest atherosclerotic disease: the SMART study. *Eur Heart J* 2006; (27): 1971-1978.

- DILLON, EH; EIKELBOOM, BC; LEEUWEN, MV. New imaging modalities: magnetic resonance and computed tomographic angiography, is conventional angiography still needed? In: Greenhalgh RM, Hollier LH, editors. Surgery for stroke. London: W. B. Saunders Company Ltd; 1993. p. 63-71.

- DI PASQUALE, G; ANDREOLI, A; PINELLI, G et al - Cerebral ischemia and asymptomatic coronary artery disease: A prospective study of 83 patients. Stroke, 1986; 17: 1098-101.

- DOBIÁSOVÁ, M; FROHLICH, J. Understanding the mechanism of LCAT reaction may help to explain high predictive value of LDL/HDL cholesterol ratio. Physiol. Res., vol. 47, p. 387-397, 1998.

- DOTTER, C; JUDKINS, MP. Transluminal treatment of arteriosclerotic obstruction: description of a new technique and a preliminary report of its applications. Circulation, 20, 654-670, 1964.

- EASTCOTT, HHG; PICKERING, G; ROB, C. Reconstruction of internal carotid artery in a patient with intermittent attacks of hemiplegia. Lancet, 994- 996, 1954.

- EISENBERG, S. High density lipoprotein metabolism. J. Lipid Res., v. 25, p.1017-1058, 1984.

- FARMER, JA; GONO, AM - Risk factors for coronary artery disease. In: Braunwald E, ed. Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine. Philadelphia: W.B. Saunders Co 1992;1125-60.

- FERNANDES, JF; DAMIÃO, A; FREIRE, JP; PEDRO, LM; SÁ, DC; MARTINS, C. Cirurgia carotídea na doença carotídea extracraniana e isquemia cerebral: resultados precoces e tardios. Acta Med Port 1991; 4: 169-77.

- FERNANDES, JF; PEDRO, LM; FREIRE, JP. A ultrasonografia doppler na avaliação da doença cerebrovascular extracraniana. In: Ribeiro C, Carvalho LS, Nogueira JB, editores.

Isquemia: abordagem multidisciplinar da fisiopatologia à clínica. Lisboa: Faculdade de Medicina de Lisboa; [s.d.]. p. 189-209.

- FERNANDES, JF; PEDRO, LM; FREIRE, JP. Doença cerebrovascular extracraniana: a decisão terapêutica e a utilização da angiodinografia na prática clínica. Rev Port Clin Geral 2001;17:295-304.

- FORTI, N; DIAMENT, J. 2006. Lipoproteínas de Alta Densidade: Aspectos Metabólicos, Clínicos, Epidemiológicos e de Intervenção Terapêutica. Atualização para os Clínicos. Arq Bras Cardiol 2006; 87: 672-679.

- FROSTEGARD, J et al, Oxidized low density lipoprotein induces differentiation and adhesion of human monocytes and the monocytic cell line U937 Proc Natl Acad Sci U S A, 1990. 87 (3): p. 904-8.

- FUJISAWA, RT; VIEIRA, AEF; FUJISAWA, RM. Altos Níveis de HDL Colesterol: Proteção ou Risco Cardiovascular? Relato de Caso. Rev. Bras. Clin. Med, 2008; 6:279-281.

- GARRET, RH; GRISHAM, CM. Biochemistry. Florida: Saunders College Publishing. p. 757-802, 1995.

- GENG, Y-J; LIBBY, P. Progression of Atheroma. A struggle between death and procreation. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2002; 22:1370-1380.

- GIMBRONE Jr, MA. Monocyte rolling, arrest and spreading on Il-4-activated vascular endothelium under flow is mediated via sequential action of Lselectin, beta-1-intergrins and beta-2-intergrins. J Cell Biol 1994; 125:1417- 27.

- GEROULAKOS, G; SONECHA, TN; NICOLAIDES, AN. The management of asymptomatic carotid disease. In: Greenhalgh RM, Hollier LH, editors. Surgery for stroke. London: W. B. Saunders Company Ltd; 1993. p. 357-368.

- GIRIBELA, AH; MELO, NR; LATRILHA, MC; BARACAT, EC; MARANHÃO, RC. HDL concentration, lipid transfer to HDL, and HDL size in normolipidemic nonobese menopausal

women. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. Volume 104, Issue 2 , Pages 117-120, February 2009.

- GLAGOV, S; WEISENBERG, E; ZARINS, CK; STANKUNAVICIUS, R; KOLETTIS, GJ. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1987; 316:1371–5.

- GOKCE, N; KEANEY, J; HUNTER, L et al. Risk stratification for postoperative cardiovascular events via noninvasive assessment of endothelial function – A prospective study. *Circulation*. 2002;105:1567-72.

- GOLDSTEIN, LB. Symptoms, signs, differential diagnosis and medical assessment of patients with carotid disease. In: Bedersen JB, Tuhim S, editors. *Treatment of carotid disease: a practitioner's manual*. Illinois: [The American Association of Neurological Surgeons]; [s.d.]. p. 45-62.

- GOLLEDGE, J; GREENHALGH, RM; DAVIES, AH. The symptomatic carotid plaque. *Stroke* 2000; 31: 774-81.

- GORDON, T; KANNEL, WB - Multiple risk functions for predicting coronary heart disease: the concept, accuracy, and application. *Am Heart J*. 1982; 103: 1031-9.

- GORELICK, PB. Carotid endarterectomy: where do we draw the line? *Stroke* 1999; 0:1745-50.

- GRÜNTZIG, A; HOPF, H. Perkutane Rekanalisation chronischer arterieller Verschlüsse mit einem neuen Katheter: Modifikation der Dotter-technik. *Deutsch Med Wochenschr*, 99, 2502-2505, 1974.

- GUYTON, AC; HALL, JE. *Textbook of medical Physiology*. 11th ed. p. 847-851. 2006.

- HALCOX, J; SCHENKE, W; ZALOS, G et al. Prognostic value of coronary vascular endothelial dysfunction. *Circ*. 2002;106:653-58.

- HANSON, GK; LIBBY, P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nature Reviews Immunology*, v.6, p.508-519, 2006.

- HART, RG; BENAVENT, O. Stroke (part I): a clinical update on prevention. *Am Fam Physician* 1999; 59: 2475-82.

- HENNEKENS CH, PETO R, HUTCHISON GB, et al. An overview of the British and american aspirin studies. *N Engl J Med* 1988; 318, 923-924.

- HEYMAN, A; WILKINSON, WE; HEYDEN, S et al - Risk of stroke in asymptomatic persons with cervical arterial bruits. *N Engl J Med*, 1980; 302: 838-41.

- HIMBERGEN, T; ROEST, M; GRAAF, J; JANSEN, EHJM; HATTORI, H; KASTELEIN, JJP; VOORBIJ, HAM; STALENHOEF, AFH; TITS, LJH. Indications that paraoxonase-1 contributes to plasma high density lipoprotein levels in familial hypercholesterolemia. *Journal of Lipid Research*. Volume 46, 2005

- HOLME, I; ENGER, SC; HELGELAND, A et al - Risk factors and raised atherosclerotic lesions in coronary and cerebral arteries. *Arteriosclerosis*, 1981; 1: 250-6.

- HOROWITZ, DR. Carotid and transcranial ultrasonography in the evaluation of carotid disease. In: Bedersen JB, Tuhim S, editors. *Treatment of carotid disease: a practitioner's manual*. Illinois: [The American Association of Neurological Surgeons]; [s.d.]. p. 63-90.

- HULTHE, J et al., Circulating ICAM-1 (intercellular cell-adhesion molecule 1) is associated with early stages of atherosclerosis development and with inflammatory cytokines in healthy 58-year-old men: the Atherosclerosis and Insulin Resistance (AIR) study. *Clin Sci (Lond)*, 2002. 103 (2): p. 123-9.

- HULTHE, J; FAGERBERG, B. Circulating oxidized LDL is associated with subclinical atherosclerosis development and inflammatory cytokines (AIR Study). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002. 22 (7): p. 1162-7.

- ILLUMINATI, G; CALIO, FG; PAPASPYROPOULOS, V; MONTESANO, G; D'URSO, A. Revascularization of the internal carotid artery for isolated, stenotic, and symptomatic kinking. Arch Surg. 2003; 138:192-7.

- International Stroke Trial Collaborative Group. The International Stroke Trial (IST): a randomised trial of aspirin, subcutaneous heparin, both, or neither among 19435 patients with acute ischemic stroke. Lancet 1997; 349: 1569-1581.

- ISIS-2 Collaborative Group. Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both or neither among 17187 cases of suspect acute myocardial infarction: ISIS-2. Lancet 1988; 2: 349-360.

- JANZON, L; BERGQVIST, D; BOBERG, J et al Prevention of myocardial infarction and stroke in patients with intermittent claudication: effects of ticlopidine: results from STIMS, the Swedish Ticlopidine Multicentre Study. J Intern Med 1990; 227: 301-308.

- JAUSSERAN, JM; REGGI, M. Physiopathologie des accidents ischémiques cérébraux. In: Jausseran JM, Reggi M, éditeurs. Stenose carotidienne: guide a l'usage du praticien. [s.l.]: Doin éditeurs; [imp. 1998]. p. 70-7.

- JOHANNESSEN, KA; NORDREHAUG, JE; VON DER LIPPE, G - Left ventricular thrombosis and cerebrovascular accident in acute myocardial infarction. Br Heart J. 1984; 51: 553-6.

- JORGE, PAR. Endotélio, Lípidos e Aterosclerose. Arq. Bras. Cardiol. Volume 68, (n° 2), p. 129-134, 1997.

- KABAROGLU, C; MUTAF, I; BOYDAK, B; OZMEN, D; HABIF, S; ERDENER, D; PARILDAR, Z; BAYINDIR, O. Association between serum paraoxonase activity and oxidative stress in acute coronary syndromes. Acta Cardiol. 2004 Dec;59(6):606-11.

- KANNEL, WB; SORLIE, P; McNAMARA, PM. Prognosis after initial myocardial infarction: the Framingham study. Am J Cardiol. 1979; 44:53-9.

- KAPRAL MK, BEN-YAKOV M, FANG J, GLADSTONE DJ, SAPOSNIK G, ROBERTSON A, SILVER FL. Gender differences in carotid imaging and revascularization following stroke. *Neurology*. 2009 Dec 8;73(23):1969-74.

- KARLSSON, H; LEANDERSON, P; TAGESSON, C; LINDAHL, M. Lipoproteomics II: mapping of proteins in high-density lipoprotein using twodimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Proteomics.*, v.5, p. 1431-1445, 2005.

- KELSO, GJ; STUART, WD; RICHTER, RJ; FURLONG, CE; JORDAN- STARRCK, TC & HARMONY, JAK, 1994. Apolipoprotein J is associated with paraoxonase in human plasma. *Biochem.*, 33: 832-839.

- KHOT, UN; KHOT, MB; BAJZER, CT; SAPP, SK; OHMAN, EM; BRENER, SJ, et al. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA*. 2003; 290:898-904.

- KOMRAD, MS; COFFEY, KS; MCKIMMIS, R; MASSEY, EW; CALIFF, RM – Myocardial infarction and stroke. *Neurology*, 1984; 34: 1403-9.

- LAROCHE, JP; MULLER, G. Carotides. In: Laroche JP, Muller G. Atlas d'echo doppler couleur artériel. Pradel-Servier médical; 1993. p. 25-56.

- LEE, RG; FOERSTER, J; LUKENS, J; PARASKEVAS, F; GREER, JP; RODGERS, GM. *Wintrobes clinical hematology*. 10. Ed. Baltimore: Lippincott Williams & Williams, 1999:1806-1808.

- LEES, KR; BATH, PM; NAYLOR, AR. ABC of arterial and venous disease. Secondary prevention of transient ischaemic attack and stroke. *BMJ* 2000;320:991-994.

- LEMOS, PA; SERRUYS, PW; van DOMBURG, RT et al. Unrestricted utilization of sirolimus-eluting stents compared with conventional bare stent implantation in the 'real world': the Rampamycin-Eluting Stent Evaluated At Rotterdam Cardiology Hosita (RESEARCH) registry. *Circulation*. 2004; 109: 190-5.

- LEON, MB; BAIM, DS; POPMA, JJ et al. A clinical trial comparing three antitrombotic-drug regimens after coronary artery stenting. *N Engl J Med* 1998; 339:1665-1671.

- LEWIS, GF; RADER, DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res.* 2005 Jun 24;96(12):1221-32.

- LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420:19-26.

- LIBBY, P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation.* 1995; 91:2844-50.

- LIMA, ES; COUTO, RD. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. *J Bras Patol Med Lab.*, v. 42, n. 3, p. 169-178, 2006.

- LLOYD-JONES, DM; NAM, BO; D'AGOSTINO, RB; LEVY, D; MURABITO, JM; WANG, TJ; WILSON, PWF; O'DONNELL, CJ. Parental cardiovascular disease as a risk factor for cardiovascular disease in middle-aged adults. A prospective study of parents and offspring. *JAMA.* 2004; 291:2204-2211.

- LO PRETE, AC; DINA, CH; AZEVEDO, CH; PUK, CG; LOPES, NH; HUEB, WA; MARANHÃO, RC. In vitro simultaneous transfer of lipids to HDL in coronary artery disease and in statin treatment. *Lipids.* 2009 Oct;44(10):917-24. Epub 2009 Sep 16.

- LOPEZ, AD; MATHERS, CD; EZZATI, M; JAMISON, DT; MURRAY, CJL. *Global Burden of Disease and Risk Factors.* Oxford University Press; New York 2006.

- LORENZ, MW; VON KEGLER, S; STEINMETZ, H; MARKUS, HS; SITZER, M. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range; prospective data from the carotid atherosclerosis progression study (CAPS). *Stroke.* 2006;37:87-92

- LOTUFO, P. Mortalidade pela Doença Cerebrovascular no Brasil. *Rev Bras Hipertens* 2000;7(4).

- LOTUFO, PA. O escore de risco de Framingham para doenças cardiovasculares, 2008. *Rev Med (São Paulo)*; 87(4):232-7.

- LUSIS, AJ. Atherosclerosis. *Nature* 2000; 407: 233-41.

- MACKNESS, MI; DURRINGTON, PN; MACKNESS, B. The role of paraoxonase 1 activity in cardiovascular disease: potential for therapeutic intervention. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2004;44):211-7.

- MACKNESS, B; DURRINGTON, PN; MCEL DUFF, P; YARNELL, J; AZAM, N; WATT, M; MACKNESS, M. Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly Prospective Study. *Circulation* 107:2775– 2779; 2003.

- MACKNESS, MI; BOULLIER, H; HENNUYER, M; MACKNESS, B; HALL, M; TAILLEUX, A; DURIEZ, P; DELFLY, B; DURRINGTON, PN; FRUCHART, JC; DUVERAGER, N; CAILLOUD, JM; CASTRO, G; BOUILLER, A. Paraoxonase activity is reduced by a proatherogenic diet in rabbits. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 269:232– 236; 2000.

- MAHELEY, RW; WEISGRABER, KH; BERSOT, TP: Disorders of lipid metabolism. In: Kronenberg, HM; Melmed, S; Polonsky, KS; Larsen, PR. (eds). *Williams Textbook of Endocrinology*, 11th ed. Philadelphia, PA SAUNDERS ELSEVIER, p. 1589-1654, 2008.

- MAKI KC, DAVIDSON MH, DICKLIN MR, BELL M, WITCHGER M, FEINSTEIN SB. Predictors of anterior and posterior wall carotid intima media thickness progression in men and women at moderate risk of coronary heart disease. *J Clin Lipidol*. 2011 May-Jun;5(3):141-51. Epub 2011 Feb 12.

- MALLIKA, V; GOSWAMI, B; RAJAPPA, M. Atherosclerosis pathophysiology and the role of novel risk factors: a clinicobiochemical perspective. *Angiology*. 2007; 58:513-22.

- MANSUR, A. 1946. An Enzyme in Animal Tissue Capable of Hydrolyzing the Phosphorusfluorine Bond of Acyl Fluorophosphates. *J. Biol. Chem.*, 164: 271-289.

- MANSUR, AP; SOUZA, MFM; FAVARATO, D; AVAKIAN, SD; CESAR, LAM; ALDRIGUI, JM et al. Stroke and ischemic heart disease mortality trends in Brazil from 1979 to 1996. *Neuroepidemiology* 2003; 22:179-83.

- MARANHÃO, RC; TERCYAK, AM; REDGRAVE, TG. Effects of cholesterol content on the metabolism of protein-free emulsion models of lipoproteins. *Biochim Biophys Acta*. 1986 Feb 12;875(2):247-55.

- MARTIN, MJ; WHISNANT, JP; SAYRE, GP - Occlusive vascular disease in the extracranial circulation. *Arch Neurol*, 1960; 5: 530-8.

- MARUYAMA, C et al. Assessment of LDL particle size by triglyceride/HDL-Cholesterol ratio in non-diabetic, healthy subjects without prominent hyperlipidemia. *J. Atheroscler Thromb* 2003; 10: 186-191.

- MATHIAS, K. A new catheter system for percutaneous transluminal angioplasty (PTA) of carotid artery stenosis. *Fortschr Med*, 95, 15, 1007-1011, 1977.

- MATHIAS, K. Catheter treatment of arterial occlusive disease of supraaortic vessels. *Radiologe*, 27, 12, 547-554, 1987.

- MATHIEU et al. *Microbial Cell Factories* 2009 8:21 doi:10.1186/1475-2859-8-21

- MATSUMOTO, N; WHISNANT, JP; KURLAND, LT; OKAZAKI, H - Natural history of stroke in Rochester, Minnesota, 1955 through 1969: an extension of a previous study, 1945 through 1954. *Stroke*, 1973; 4: 20-9.

- MATTHEWS, KA; MEILAHN, E; KULLER, LH et al - Menopause and risk factors for coronary artery disease. *N Engl J Med*. 1989; 321: 641-5.

- MENDOZA-SASSI R, BÉRIA JU. Utilización de los servicios de salud: una revisión sistemática sobre los factores relacionados. *Cad Saúde Pública*. 2001;17(4):819-32.

- MERLO, I; BRITO, CJ; SILVA, RM. Lesões obstrutivas das carótidas extracranianas. In: Brito CJ, Duque A, Merlo I, Silva RM, et al. Cirurgia vascular. Rio de Janeiro: Revinter; 2002; 58:912-45.

- MESSERLI, FH. Cardiovascular Drug Therapy – 2th. edition W. B. Saunders Company – Philadelphia – 1990.

- METHA, JL; LI, D. Identification, regulation and function of a novel lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39:1429-1435.

- MITCHELL, RN; COTRAN, RS. Distúrbios hemodinâmicos, trombose e choque. In Cotran RS, Kumar V, Robbins S.L. (EDS) - Robbins patologia estrutural e funcional. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2000:107-116.

- MONZANI, F; CARACCIO, N; KOZAKOW, M; DARDANO, A; VITTONE, F; VIRDIS, A et al. Effect of levothyroxine replacement on lipid profile and intima-media thickness in subclinical hypothyroidism: a double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2099-2106.

- MOORE, WS. The management of extracranial cerebrovascular disease. In: Rutherford RB, editor. Vascular surgery. Philadelphia: WB Saunders; 1995. p. 1457-61.

- MOREY, SC. AHA update guidelines for carotid endarterectomy. *Am Fam Physician* 1998; 58: 1898-904.

- MOREY, SC. National stroke association develops a consensus statement on prevention of stroke. *Am Fam Physician* 1999; 60: 314-7.

- MOURA, EC; NAKAMURA, SY; ROMERO, VS. V. Níveis de colesterol em escolares da 1ª série de uma escola pública de Campinas, São Paulo, Brasil. *Revista de Nutrição*, v. 10, n. 1, p. 63-69, 1997.

- MOURGELA, S; ANAGNOSTOPOULOU, S; SAKELLAROPOULOS, A; SPANOS, A. Dolichoectatic cervical arteries (carotid and vertebral arteries) heralded by recurrent cerebral ischemia: case illustration. *Angiology*. 2008;59:107-110.

- MRC European Carotid Surgery Trial (ECST): interim results for symptomatic patients with severe (70-99%) or with mild (0-29%) carotid stenosis. European Carotid Surgery Trialists' Collaborative Group. *Lancet*, 337, 8752, 1235-1243, 1991.

- MURRAY, RK; GRANNER, DK; MAYES, PA; RODWELL, VW. Harper: Bioquímica, 9^a ed. São Paulo, Atheneu Editora, 2002.

- NAGASAKI, T; INABA, M; HENMI, Y; KUMEDA, Y; UEDA, M; TAHARA, H; SUGIGUCHI, S; FUJIWARA, S; EMOTO, M; ISHIMURA, E; ONODA, N; ISHIKAWA, T; NISHIZAWA, Y. (2003), Decrease in carotid intima-media thickness in hypothyroid patients after normalization of thyroid function. *Clinical Endocrinology*, 59: 607–612.

- NAPOLI, C. et al. Nitric Oxide and atherosclerosis: na update. *Nitric Oxide*, 2006. 15 (4): p. 265-79.

- NEWMAN, AB; SISCOVICK, DS; MANOLIO, TA; POLAK, J; FRIED, LP; BORHANI, NO; WOLFSON, SK. Cardiovascular Health Study (CHS) Collaborative Research Group. Atherosclerosis: Ankle-Arm Index as a Marker of Atherosclerosis in the Cardiovascular Health Study. *Circulation*. 1993; 88(3): 837-845.

- NORRIS, JW. The natural history of asymptomatic carotid artery disease. In: Greenhalgh RM, Hollier LH, editors. *Surgery for stroke*. London: W. B. Saunders Company Ltd; 1993. p. 299-309.

- OLIVEIRA, TV; MANIERO, F; SANTOS, MH; BYDLOWSKI, SP; MARANHÃO, RC. Impact of high cholesterol intake on tissue cholesterol content and lipid transfers to high-density lipoprotein. *Nutrition*. 2011 Jun;27(6):713-8. Epub 2010 Oct 8.

- ORAM J.F. The cholesterol mobilizing transporter ABCA1 as a new therapeutic target for cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med.*, v.12, p170-175.2002.

- PATEL, SP; EVANS, MF. Is carotid endarterectomy beneficial for patients with stenosis? North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial. *Can Fam Physician* 1999; 45: 1482-4.

- PARK, SJ; SHIM, WH; HO, DS et al. A paclitaxel-eluting stent for the prevention of coronary restenosis. *N Engl J Med*, 2002; 348: 1537-45.

- PARSONS, RE; SUGGS, WD; LEE, JJ et al. Percutaneous transluminal angioplasty for the treatment of limb threatening ischemia: do the results justify an attempt before bypass grafting? *J Vasc Surg.* 1998; 28: 1066-71.

- PATRONO, C; COLLIER, B; DALEN, JE et al. Platelet-active drugs: the relationships among doses, effectiveness, and side effects. *Chest* 2001; 119 (suppl): 39S-63S.

- PAULETTO, P; SARTORE, S; PESSINA, AC. Smooth-muscle-cell proliferation and differentiation in neointima formation and vascular restenosis. *Clin Sci (Lond)*. 1994; 87: 467-79.

- PEDERSEN, EM; OYRE, S; AGERBAEK, M; KRISTENSEN, IB; RINGGAARD, S; BOESIGER, P; PAASKE, WP. Distribution of early atherosclerotic lesions in the human abdominal aorta correlates with wall shear stresses measured *in vivo*. *Eur J Vas Endovas Surg.* 1999; 18: 328-333.

- PEDRO, LM; FREIRE, JP; MARTINS, C; CARRIÇO, M; PEREIRA, R; DAMIÃO, A; FERNANDES, JF. Doença oclusiva carotídea extracraniana: diagnóstico não invasivo. *Rev Port Hemoreol* 1991; 5 (supl. 2): 253-67.

- PERRY, JA; SZALAI, JP; NORRIS, JW. Consensus against both endarterectomy and routine screening for asymptomatic carotid artery stenosis. *Arch Neurol* 1997; 54: 25-8.

- PESARO, AE; SERRANO, CV; FERNANDES, JL et al. Pleiotropic effects of ezetimibe/simvastatin vs. high dose simvastatin. *International Journal of Cardiology* 2011; 13292:1-5

- PETO, R; GRAY, R; COLLINS, R et al. Randomised trial of prophylactic daily aspirin in British male doctors. *BMJ* 1988; 296: 313-316.

- PHS - Steering Committee of the Physicians' Healthy Study Research Group. Final report on the aspirin component of the ongoing Physicians' Healthy Study. *N Engl J Med* 1989; 321: 129-135.

- PINTO, LB; WAJNGARTEN, M; SIVA, EL; VINAGRE, CC; MARANHAO, RC. Plasma kinetics of a cholesterol-rich emulsion in young, middle-aged, and elderly subjects. *Lipids*. 2001;36(12):1307-11.

- POLANCZYK, CA. Fatores de risco cardiovascular no Brasil: os próximos 50 anos!. *Arq. Bras. Cardiol.*, São Paulo, v. 84, n. 3, Mar. 2005

- PUK, CG; BOCCHI, EA et al. Transfer Cholesterol and Other Lipids From a Lipid Nanoemulsion to High-density Lipoprotein in Heart Transplant Patients. *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 2009; Vol 28, n. 10: 1075-1080

- QUINN MJ, Fitzgerald DJ. Ticlopidine and clopidogrel. *Circulation* 1999; 100: 1667-1672.

- RADER, DJ (M.D.).2002.High-density lipoprotein metabolism as a therapeutic target for atherosclerosis. *Cardiology Rounds*;Vol. 6,Is.10.

- RADER, DJ (M.D); CUCHEL, M (MD, PhD). 2007. Is the Cholesteryl Ester Transfer Protein Proatherogenic or Antiatherogenic in Humans? *Journal of the American College of Cardiology*. v. 50, n. 20.

- RANDOUX, B; MARRO, B; KOSKAS, F *et al.* Carotid artery stenosis: prospective comparison of CT, threedimensional gadolinium-enhanced MR, and conventional angiography. *Radiology* 2001; 220:179-85.

- REMBOLD, KE; AYERS, CR; WILLS, MB; REMBOLD, CM. Usefulness of carotid intimal medial thickness and flow-mediated dilation in a preventive cardiovascular practice. *Am J Cardiol.* 2003; 91:1475-7.

- RIBEIRO, KC; SHINTAKU, RCO. A influência dos lipídios da dieta sobre a aterosclerose. *ConScientiae Saúde*, v. 3, p. 73-83. São Paulo: Uninove, 2004.

- RODRIGUES, G; FALCÃO, I; FERRO, JM. Diagnóstico de acidente isquêmico transitório por clínicos gerais: validação na rede médicos sentinela. *Rev Port Clin Geral* 1997; 14:368-75.

- ROSENBLAT, M; HAYEK, T; HUSSEIN, K; AVIRAM, M. Decreased macrophage paraoxonase 2 expression in patients with hypercholesterolemia is the result of their increased cellular cholesterol content: effect of atorvastatin therapy. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24:175–180; 2004.

- ROSS, R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 340:115-26.

- ROTHWELL, PM. Carotid artery disease and the risk of ischaemic stroke and coronary vascular events. *Cerebrovasc Dis.* 2000;10 Suppl 5:21-33.

- ROTHWELL, PM; GIBSON, R; WARLOW, CP on behalf of the European Carotid Surgery Trialists's (ECST) Collaborativ Group. Interrelation between plaque surface morfology and degree of stenosis on carotid angiograms and the risk of ischemic stroke in patients with symptomatic carotid stenosis. *Stroke* 2000;31: 615-21.

- ROUBIN, GS; YADAV, S; IYER, SS et al. Carotid stent-supported angioplasty: a neurovascular intervention to prevent stroke. *Am J Cardiol*, 78, 3A, 8-12, 1996.

- RUBENS, J; ESPELAND, MA; RYU, J et al - Individual variation in susceptibility to extracranial carotid atherosclerosis. *Artenosclerosis*, 1988; 8: 389-97.

- SALONEN, R; SEPPANEN, K; RAURAMAA, R; SALONEN, JT - Prevalence of carotid atherosclerosis and serum cholesterol levels in Eastern Finland. *Arteriosclerosis*, 1988; 8: 788-92.

- SANTOS, MG; PEGORARO, M; SANDRINI, F; MACUCO, EC. Fatores de Risco no Desenvolvimento da Aterosclerose na Infância e Adolescência. *Arq Bras Cardiol*. 2008; 90(4): 301-308.

- SANTOS, RD; HUEB, W; OLIVEIRA, AA; RAMIRES, JA; MARANHÃO, RC. Plasma kinetics of a cholesterol-rich emulsion in subjects with or without coronary artery disease. *J Lipid Rec*. 2003;44(3):464-9.

- SCHÄCHINGER, V; BRITTEN, MB; ZEIHNER, AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation*. 2000; 101:r1-r8.

- SCHROEDER, TV. Cerebral blood flow measurements in carotid artery disease. In: Greenhalgh RM, Hollier LH, editors. *Surgery for stroke*. London: W. B. Saunders Company Ltd; 1993. p. 73-84.

- SERRUYS, PW; ONG, ATL; MORICE, MC et al. Arterial Revascularization Therapies Study. II. Sirolimus-eluting stents for the treatment of patients with multivessel de novo(?) coronary artery lesions. *EuroIntervention* 2005; 1: 147-56.

- SHIMOKAWA, H; FLAVAHAN, NA; VANHOUTTE, PM. Natural course of the impairment of endothelium dependent relaxation after balloon endothelium removal in porcine coronary arteries. Possible dysfunction of a pertussis toxin-sensitive G protein. *Circ Res*. 1989; 65:740-753.

- SIGAL, GA; MEDEIROS-NETO, G; VINAGRE, JC; DIAMENT, J; MARANHÃO, RC. Lipid metabolism in subclinical hypothyroidism: plasma kinetics of triglyceride-rich lipoproteins and lipid transfers to high-density lipoprotein before and after levothyroxine treatment. *Thyroid*. 2011 Apr;21(4):347-53.

- SOARES, CM et al . Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial e complexo médio-intimal das artérias carótida e braquial: avaliação de indivíduos com e sem fatores de risco para aterosclerose. Radiol Bras, São Paulo, v. 43, n. 6, Dec. 2010.
- Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC). II Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias. Detecção, avaliação e tratamento. Arq Bras Cardiol. 67: 109-28. 1996.
- STAESSEN, JA; HEIJDEN-SPEK, H; SAFAR, ME; HOND, ED; GASOWSKI, J; FAGARD, RH; WANG, JG; STRUIJKER BOUDIER, HA; VAN BORTEL, LM. Menopause and the characteristics of the large arteries in a population study. Journal of Human Hypertension (2001) 15, 511–518.
- STARY, HC; CHANDER, AB; DINSMORE, RE; FUSTER, V; GLAGOV, S; INSULL, W; Jr. ROSENFELD, ME; SCHWARTZ, CJ; WAGNER, WD; WISSLER, RW. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1995; Sep;15:1512-31.
- STEIN, A; DUARTE , ER; PIMENTEL FILHO, P. Dor torácica na emergência de um hospital geral. Revista da AMRIGS, 2007. Porto Alegre, 51 (4): 248-254.
- STEIN J.H.; KORCARZ E. Use of Carotid Ultrasound to Identify Subclinical Vascular Disease and Evaluate Cardiovascular Disease Risk: A Consensus Statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force *Endorsed by the Society for Vascular Medicine*. Journal of the American Society of Echocardiography February 2008:93-111
- STEINBERG, D; PARTHASARATHY, S; CAREW, TE et al. Beyond cholesterol. Modification of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. N Engl J Med 1989; 320:915-924.

- STEINHUBL, SR; TAN, WA; FOODY, JM et al. Incidence and clinical course of thrombotic thrombocytopenic purpura due to ticlopidine following coronary stenting: EPISTENT Investigators Evaluation of Platelet II b/III a Inhibitor for Stenting. JAMA 1999;281: 806-810.

- STOKKE, K. T. & NORUM, K. R. (1971) Scand. J. Clin. Lab. Invest. 27, 21-27

- STRULLY, KJ; HURWITT, ES; BLANKENBERG, HW. Thromboendarterectomy for thrombosis of the internal carotid artery in the neck. J Neurosurg, 10, 5, 474-482, 1953

- TAYLOR, DW; BARNETT, HJM; HAYNES, RB et al. Low dose and high dose acetylsalicylic acid for patients undergoing carotid endarterectomy: a randomized controlled trial. Lancet 1999; 353:2179-2184.

- THERON, JG; PAYELLE, GG; COSKUN, O et al. Carotid artery stenosis: treatment with protected balloon angioplasty and stent placement. Radiology, 201, 3, 627-636, 1996.

- THOMPSON, PL; ROBMONSON, JS - Stroke after acute myocardial infarction Relation to infarct size. Br Med J. 1978; 2:457-62.

- TINOCO, EC; ARAÚJO, JO; ANDERSON, P et al. Implante de stent de Palmaz em carótida: Relato de caso. Rev Angiol Cir Vasc, 4, 4, 133-136, 1995.

- TOOLE, JF; YUSON, CP; JANEWAY, R et al - Transient ischemic attacks: a prospective study of 225 patients. Neurology, 1978; 28: 746-53.

- TOUBOUL, PJ; HENNERICI, MG; MEAIRS, S et al. Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004-2006). An update on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. Cerebrovasc Dis. 2007; 23:75-80.

- TOUBOUL, P-J et al. ON BEHALF OF PARC STUDY PARTICIPATING PHYSICIANS. Correlation between the Framingham risk score and intima media thickness: The *Paroi Artérielle et Risque Cardio-vasculaire* (PARC) study (2007). Atherosclerosis 192, 363–369.

- UINT, L; SPOSITO, A; BRANDIZZI, LI; YOSHIDA, VM; MARANHAO, RC; LUZ, PL. Cellular cholesterol efflux mediated by HDL isolated from subjects with low HD levels and coronary artery disease. *Arq Bras Cardiol*, 2003;81(1):39-41.

- VIEIRA, EA; COUTO et al 2011. Razão triglicérides/HDL-C e proteína C reativa de alta sensibilidade na avaliação do risco cardiovascular. *J Bras Patol Med Lab*; v. 47 n. 2 p. 113-118 abril 2011

- VOET, D; VOET, JG. *Biochemistry*, 2 ed. New York: Wiley, 2005.

- WEINBERGER, J. Medical treatment of patients with carotid disease. In: Bedersen JB, Tuhim S, editors. *Treatment of carotid disease: a practitioner's manual*. Illinois: [The American Association of Neurological Surgeons]; [s.d.]. p. 109-128.

- WEITZEL, LH; WEITZEL, ELM; AZEVEDO, AC. Associação entre as Ateroseloses Carotídeana e Coronariana. Avaliação pela ecografia com doppler das carótidas. *Arq Bras Cardiol*, *Arq Bras Cardiol*, 1993, volume 60, nº 4, p. 235-241.

- WEKSLER, BB; PETT, SB; ALONSO, D et al. Differential inhibition by aspirin of vascular and platelet prostaglandin synthesis in atherosclerotic patients. *N Engl J Med* 1983; 308: 800-805.

- WENDELHAG, I; WIKLUND, O; WIKSTRAND, J. Arterial wall thickness in familial hypercholesterolemia. Ultrasound measurement of intima-media thickness in the common carotid artery. *Arterioscler Thromb*. 1992; 12:70-7.

- WHISNANT, JP; MATSUMOTO, N; ELVEBACK, LR. Transient cerebral ischemic attacks in a community. Rochester, Minnesota, 1955 through 1969. *Mayo Clin Proc*, 48, 3, 194-198, 1973.

- WILDMAN, RP; SCHOTT, LL; BROCKWELL, S; KULLER, LH; MD, SUTTON-TYRRELL, K. A Dietary and Exercise Intervention Slows Menopause-Associated Progression of Subclinical Atherosclerosis as Measured by Intima-Media Thickness of the

Carotid Arteries. Journal of the American College of Cardiology, Vol. 44, No. 3, 2004:579–85.

- WILSON, PWF; D'AGOSTINO, RB; LEVY, D; BELANGER, AM; SILBERSHATZ, H; KANNEL, WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. Circulation. 1998; 97:1837–47.

- WISSLER, RW. Princípios da patogenia da aterosclerose. In: BRAUNWALD, E. ed. Tratado de Medicina Cardiovascular. S.P. Roca. (2): 1154-75, 1987.

- WOLF, PA; KANNEL, WB; VERTER, J - Current status of risk factors for stroke. Neurologic Clinics, 1983;1: 317-43.

- YAMADA, KA; MOZAFFAR, T; AWADALLA, S. Neurologic emergencies in internal medicine. In: Carey CF, Lee HH, Woeltje KF, editors. The Washington manual of medical therapeutics. Philadelphia: Lippincot-Raven; 1998. p. 475- 493.

- ZIELINSKI, T; DZIELINSKA, Z; JANUSZEWICZ, A; RYNKUN, D; MAKOWIECKA, CM; TYCZYNSKI, P; PREJBISZ, A; DEMKOW, M; KADZIELA, J; NARUSZEWICZ, M; JANUSZEWICZ, M; JURASZYNSKI, Z; KOREWICKI, J; RUZYLLO, W. Carotid intima-media thickness as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients with coronary artery disease. Am J Hypertens 2007; (20): 1058-1064.

- I DIRETRIZ BRASILEIRA DE DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA SÍNDROME METABÓLICA. 2005. Arquivos Brasileiros de Cardiologia - Volume 84, Suplemento I.

- III DBSD/DPA- Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia .Arq Bras Cardiol volume 77, (suplemento III), 2001.

- IV DBSDPA -Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Arq Bras Cardiol 2007; 88: Supl I. 44- 1.

- IV DBHA- Diretriz Brasileira sobre Hipertensão Arterial. Arq Bras Cardiol 2004; 82:1-14.

-II CBD- Consenso Brasileiro de Dislipidemia, 1996

- <http://www.ups.upenn.edu/inhibition-reduce-high-cholesterol-photo.htm>

- <http://www.salzburg.eu>; “acessado em 15/02/2010”.

APENDICES

Protocolo I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E PRÉ-ESCLARECIDO

(Instruções para preenchimento no final deste)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: .M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:.....

BAIRRO:.....CIDADE:.....

CEP:.....TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL:.....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.).....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE:.....SEXO: M F

DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:.....

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....).....

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:

Incorporação e esterificação do colesterol na lipoproteína de alta densidade (HDL): avaliação de biomarcadores plasmáticos e do diagnóstico por imagem (ecografia vascular com doppler) relacionados com a doença aterogênica de carótidas extracranianas e artérias vertebrais

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: PROF. DR. RICARDO DAVID COUTO

CARGO/FUNÇÃO: PROFESSOR ADJUNTO I DO DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS DA FACULDADE DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL DE FARMÁCIA – BA Nº 2884

UNIDADE: LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS DA FACULDADE DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

PESQUISADOR EXECUTANTE: ROGERIO J.B. OLIVEIRA

CARGO/FUNÇÃO: PÓS-GRADUANDO DA FIOCRUZ (CPqGM) , MÉDICO ASSISTENTE DO DEPARTAMENTO DE CARDIOLOGIA DO HOSPITAL NAVAL DE SALVADOR

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA – BA Nº 16.097

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO RISCO MÍNIMO RISCO MÉDIO
 RISCO BAIXO RISCO MAIOR

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: DOIS ANOS (NOVEMBRO 2008 - NOVEMBRO 2010)

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

1. Justificativa e os objetivos da pesquisa; 2. Procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais; 3. Desconfortos e riscos esperados; 4. Benefícios que poderão ser obtidos; 5. Procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

1. Acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas. Sim
2. Liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência. Sim
3. Salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade. Sim
4. Disponibilidade de assistência no Laboratório de Análises Clínicas – FAR-UFBA, determinações Bioquímicas e exames de rotina e pesquisa relacionados ao metabolismo de lipídeos e suas frações. Sim

V. INFORMAÇÕES DE NOME, E TELEFONES DO RESPONSÁVEL PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

- Prof. Dr. Ricardo David Couto.

Coordenador - Contatos: Tel.xx71-3283-6952, Cel. xx71-9963-8131

- Rogerio J. B. Oliveira

Pós Graduando – Contatos: Tel.xx71-3307-3409, Cel. Xx71-8852-3536

(Colaborador Hospital Naval e aluno da FIOCRUZ-CPqGM)

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

Salvador, ___ de _____ de 2008.

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome legível)

INSTRUÇÕES PARA PREENCHIMENTO

(Resolução Conselho Nacional de Saúde 196, de 10 outubro 1996)

1. Este termo conterá o registro das informações que o pesquisador fornecerá ao sujeito da pesquisa, em linguagem clara e acessível, evitando-se vocábulos técnicos não compatíveis com o grau de conhecimento do interlocutor.
2. A avaliação do grau de risco deve ser minuciosa, levando em conta qualquer possibilidade de intervenção e de dano à integridade física do sujeito da pesquisa.
3. O formulário poderá ser preenchido em letra de forma legível, datilografia ou meios eletrônicos.
4. Este termo deverá ser elaborado em duas vias, ficando uma via em poder do paciente ou seu representante legal e outra deverá ser juntada ao prontuário de pesquisa do paciente.
5. A via do Termo de Consentimento Pós-Informação submetida à análise da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CEP deverá ser idêntica àquela que será fornecida ao sujeito da pesquisa.

Protocolo II

Ficha de Anamnese

Nome:
Data de nascimento:
Contatos:
Endereço:
OBS:

Questionário

Responda às questões abaixo, marcando a resposta com um X:

Possui alguma das doenças ou realiza algum hábito abaixo?

	SIM	NÃO	NÃO SEI
1- Hipertensão Arterial			
2- Diabetes			
3- Acidente Vascular Encefálico (Derrame)			
4- Dislipidemia(aumento de colesterol ou triglicérides)			
5- Hipotireoidismo			
6- Insuficiência Renal			
7- Etilismo			
8-Tabagismo			
9- Faz atividade física regularmente			
10-Uso de alguma medicação regular para doenças acima			

Protocolo III

(autorização do uso de imagem)

TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE USO DE IMAGEM

Eu, LÁZARO SOUZA COSTA, 38anos, estado civil CASADO, portador do registro de identidade nº 32.457.71-2 SSP/BA, residente AV. Manoel Dias, nº 45/ apto 402, Pituba, na cidade de Salvador, estado da Bahia, AUTORIZO o uso de minha imagem em todo e qualquer material entre fotos, documentos e outros meios de comunicação, para ser utilizada no trabalho de Pós-Graduação do Sr. Rogério J. B. Oliveira, seja esse destinado ao aperfeiçoamento e avanço da ciência, divulgação ao público em geral e/ou apenas para uso interno de uma instituição, desde que não haja desvirtuamento da sua finalidade.

A presente autorização é concedida a título gratuito, abrangendo o uso da imagem acima mencionada em todo território nacional e no exterior, em todas as suas modalidades.

Por esta ser a expressão da minha vontade, declaro que autorizo o uso acima descrito, sem que nada haja a ser reclamado, a título de direitos conexos à minha imagem ou a qualquer outro, e assino a presente autorização em 02 (duas) vias de igual teor e forma.

Salvador, 10 de Outubro, de 20 10.

Lázaro Souza Costa

Assinatura

Protocolo IV

Tabela 8 – Escores de risco de Framingham (ERF) para cálculo do risco absoluto de infarto e morte em 10 anos para homens e mulheres (Fase 2)

HOMENS		MULHERES	
Idade	Pontos	Idade	Pontos
20-34	-9	20-34	-7
35-39	-4	35-39	-3
40-44	0	40-44	0
45-49	3	45-49	3
50-54	6	50-54	6
55-59	8	55-59	8
60-64	10	60-64	10
65-69	11	65-69	12
70-74	12	70-74	14
75-79	13	75-79	16

CT	IDADE					CT	IDADE				
mg/dl	20-39	40-49	50-59	60-69	70-79	mg/dl	20-39	40-49	50-59	60-69	70-79
< 160	0	0	0	0	0	< 160	0	0	0	0	0
160-199	4	3	2	1	0	160-199	4	3	2	1	1
200-239	7	5	3	1	0	200-239	8	6	4	2	1
240-279	9	6	4	2	1	240-279	11	8	5	3	2
≥280	11	8	5	3	1	≥280	13	10	7	4	2

FUMO	IDADE					FUMO	IDADE				
	20-39	40-49	50-59	60-69	70-79		20-39	40-49	50-59	60-69	70-79
Não	0	0	0	0	0	Não	0	0	0	0	0
Sim	8	5	3	1	1	Sim	9	7	4	2	1

HDL-colesterol (mg/dl)	PONTOS	HDL-colesterol (mg/dl)	PONTOS
≥ 60	-1	≥ 60	-1
50-59	0	50-59	0
40-49	1	40-49	1
< 40	2	< 40	2

PA sistólica (mmHg)	Não Tratada	Tratada	PA sistólica (mmHg)	Não Tratada	Tratada
< 120	0	0	< 120	0	0
120-129	0	1	120-129	1	3
130-139	1	2	130-139	2	4
140-159	1	2	140-159	3	5
≥ 160	2	3	≥ 160	4	6

Total de Pontos	Risco absoluto em 10 anos (%)	Total de Pontos	Risco absoluto em 10 anos(%)
<0	<1	<9	<1
0	1	9	1
1	1	10	1
2	1	11	1
3	1	12	1
4	1	13	2
5	2	14	2
6	2	15	3
7	3	16	4
8	4	17	5
9	5	18	6
10	6	19	8
11	8	20	11
12	10	21	14
13	12	22	17
14	16	23	22
15	20	24	27
16	25	≥25	≥30
≥17	≥30		

ANEXO A

Modelo de laudo

HOSPITAL NAVAL

DUPLEX SCAN DAS ARTÉRIAS CARÓTIDAS E VERTEBRAIS

Exame de fácil realização técnica, executado com transdutor de 5,0 a 7,5Mhz em modo duplex scan.

CARÓTIDA DIREITA:

Rastreamos a artéria carótida comum e seus respectivos ramos, carótida interna e externa.

Artérias de paredes lisas, sem evidências de estenoses nos segmentos avaliados.

Artéria Vertebral: pérvia, de trajeto e calibre normais.

Dopplervelocimetria:

Velocidades de Picos sistólicos e diastólicos dentro da normalidade.

CARÓTIDA ESQUERDA:

Rastreamos a artéria carótida comum e seus respectivos ramos, carótida interna e externa.

Artérias de paredes lisas, sem evidências de estenoses nos segmentos avaliados.

Artéria Vertebral: pérvia, de trajeto e calibre normais.

Dopplervelocimetria:

Velocidades de Picos sistólicos e diastólicos dentro da normalidade.

IMPRESSÃO DIAGNÓSTICA -

- Não há evidências de estenose com significância hemodinâmica nas artérias carótidas.
- Vertebrais patentes.

Anexo B

Método de insonação



Método de insonação longitudinal das artérias carótida direita e vertebral.

Anexo C

Laudo de ecografia

PACIENTE: CLL

IDADE: 68

DATA: 18/08/2010

DUPLEX SCAN DE ARTÉRIAS CARÓTIDAS

Exame de fácil realização, executado com transdutor de 5,0 a 7,5Mhz em modo Duplex.

DIREITA:

Rastreamos a artéria carótida comum e seus respectivos ramos, carótida interna e externa.

Artérias de paredes espessadas, placa irregular, heterogêna, hiperecótica, menor que 20% do ramo interno.

Artéria Vertebral: pérvia, de trajeto e calibre normais.

Dopplervelocimetria:

Velocidades de Picos sistólicos e diastólicos dentro da normalidade.

ESQUERDA:

Rastreamos a artéria carótida comum e seus respectivos ramos, carótida interna e externa.

Artérias de paredes espessadas, com placas irregulares, em bifurcação se prolongando até ambos os ramos.

Placa 30% heterogênea em ramo externo e 50% em início de ramo interno.

Artéria Vertebral: pérvia, de trajeto e calibre normais.

Dopplervelocimetria:

Velocidades de Picos sistólicos e diastólicos dentro da normalidade.

IMPRESSÃO DIAGNÓSTICA:

- *Doença Carotídea Ateromatosa*
- *Não há evidências de estenose com significância hemodinâmica nas artérias carótidas.*
- *Vertebrais patentes.*

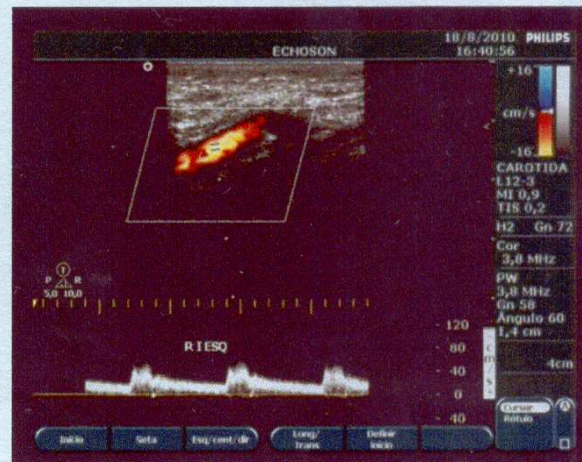
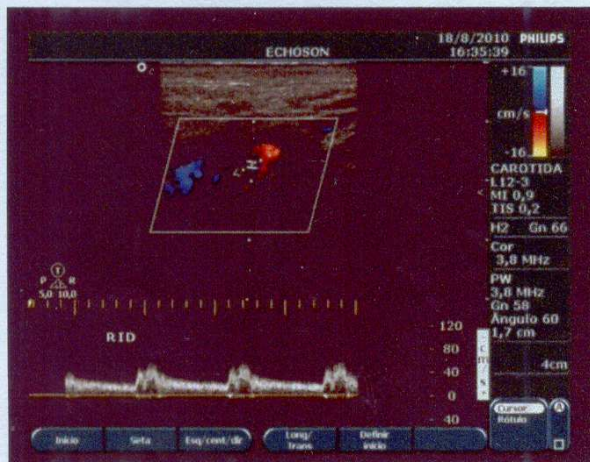
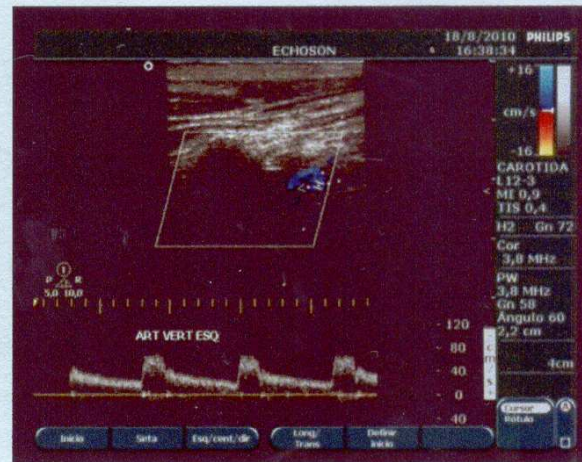
Dr. Rogério J. B. Oliveira
CRM 16097

Anexo D

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

Paciente: CLL

Data Nasc.: 29/11/1942



Anexo E- Identificação e resultados gerais de exames

IDENTIFICAÇÃO E RESULTADOS GERAIS DE EXAMES DOS PARTICIPANTES																			
RG	IDENT	GEN	ID	HAS	DM	DISLIP	HIPOT	GLIC	URE	CREA	CT	HDL	LDL	VLDL	TRI	DOP	IC-I	IC-II	IGAZZ
								(mg/dl)								CT/HDL	LDL/HDL	TG/HDL	
1	AMS	2	67	X		X	X	89	42	0,9	205	80	97	28	140	N	1,75	2,56	1,21
2	ASS	2	70	X	X	X		261	43	0,8	138	44	67,6	26,4	132	DAC	3	3,27	2,09
3	ACCA	2	36					83	23	0,7	147	45	94,2	7,8	39	N	0,87	1,82	0,7
4	ASP	2	66			X	X	91	24	0,7	182	100	69,6	12,4	62	N	0,62	3,82	2,4
5	ACPS	2	34					89	20	0,9	185	59	103	23,4	117	N	1,98	2,71	1,43
6	AMMO	2	56	X			X	100	40	0,7	191	39	121	31,4	157	DAC	4,02	3,83	2,45
7	ARPV	1	32			X	X	99	20	0,7	210	55	132	23	115	N	2,09	4,1	2,52
8	AS	1	69	X	X	X		138	37	1	181	49	119	13	65	DAC	1,33	1,77	0,64
9	AGQC	2	26					66	24	0,8	139	51	76,2	11,8	59	N	1,16	1,46	0,32
10	ACSJ	2	65	X				68	52	1	188	86	82	20	100	DAC	1,16	3,96	2,52
11	CSC	1	68	X	X	X		144	22	0,9	165	41	70,4	53,6	268	N	6,54	4,09	2,16
12	CP	1	64	X		X		66	20	0,7	103	28	54,8	20,2	101	DAC	3,61	3,39	1,96
13	CLL	1	65	X	X	X		144	35	1,1	181	70	75,2	35,8	179	DAC	2,56	4,54	2,97
14	DCS	2	76	X		X	X	100	40	0,9	165	67	77,4	20,6	103	DAC	1,54	3,03	1,62
15	EC	2	70	X				103	20	0,8	164	59	82,2	22,8	114	DAC	1,93	4,94	2,63
16	EIF	1	40		X	X		136	26	0,9	211	34	125	52	260	DAC	7,65	2,86	1,52
17	EAG	1	71	X	X	X		69	45	1,1	129	77	43	9	45	DAC	0,58	4,09	2,62
18	ENA	2	69	X		X	X	73	34	0,7	125	46	65,8	13,2	66	N	1,43	3,14	1,75
19	ES	2	49	X				96	45	1,2	180	47	115	18	90	DAC	1,91	2,73	1,49
20	EMCS	2	62	X				55	17	0,4	89	27	53,8	8,2	41	N	1,52	6,21	3,68
21	EMC	2	73	X	X	X	X	100	37	0,9	189	70	91,4	27,6	138	DAC	1,97	2,73	1,35
22	EO	1	68	X	X	X		78	42	0,8	236	50	164	21,8	109	DAC	2,18	3,78	2,31
23	EFA	2	46	X		X		118	30	0,7	164	60	81,2	22,8	114	DAC	1,9	2,52	1,22
24	EVD	2	74	X		X		102	30	1	219	58	134	27,4	137	DAC	2,36	3,29	1,91
25	EDS	2	73	X	X	X	X	112	34	0,9	164	40	101	23,4	117	DAC	2,93	8,4	6,33
26	FCSF	1	54		X	X		125	35	0,9	148	58	72,8	17,2	86	DAC	1,48	2,49	1,22

27	FLC	1	52	X	X	X		121	20	0,8	111	36	46,4	28,6	143	N	3,97	1,46	0,32
28	GFSJ	2	41				X	98	24	0,8	159	63	76,8	19,2	96	DAC	1,52	2,51	1,33
29	HS	1	77					86	25	0,7	181	50	110	21,2	106	DAC	2,12	4,67	2,47
30	IGF	2	59	X		X		85	34	0,7	229	57	128	43,8	219	DAC	3,84	2,13	0,4
31	JPS	2	72	X	X	X		106	43	0,9	108	42	50,4	15,6	78	N	1,86	1,95	0,7
32	JGV	1	71	X	X			212	48	1,4	100	47	32	21	105	DAC	2,23	5,8	4,12
33	JSC	1	70	X	X	X		207	41	1	183	47	113	23	115	DAC	2,45	2,86	1,51
34	JWP	1	41		X	X		321	42	0,9	193	34	45,6	113,4	567	DAC	16,68	3,2	1,67
35	JMV	1	73	X		X		94	32	1,3	101	40	36,4	24,6	123	DAC	3,08	4,9	3,1
36	JEJS	1	74	X	X	X		114	46	0,9	173	45	69,4	58,6	293	DAC	6,51	2,19	0,9
37	JHF	1	70	X	X	X		147	26	1	149	84	53,6	11,4	57	DAC	0,68	3,68	1,96
38	JER	2	25					66	21	0,9	148	45	86	17	85	N	1,89	2,59	1,07
39	JMSR	2	54			X		75	40	0,8	233	68	138	26,8	134	N	1,97	2,46	1,15
40	JNS	1	34			X		99	19	0,9	252	30	190	31,8	159	N	5,3	1,68	0,6
41	JPFA	2	46			X		92	16	0,7	162	65	79	18	90	DAC	1,38	3,08	1,28
42	LMSR	2	53	X		X		82	24	1	123	84	27,2	11,8	59	N	0,7	3,62	2,2
43	LJE	1	72	X	X	X	X	101	40	1,4	157	35	93,4	28,6	143	DAC	4,09	2,57	1,19
44	MJBJ	2	66			X		83	36	0,9	190	48	121	21	105	DAC	2,19	2,13	0,7
45	MRF	2	67	X	X	X		168	29	0,6	158	56	77,8	24,2	121	N	2,16	3,89	2,4
46	MLAES	2	53	X		X		89	25	0,8	219	44	149	25,6	128	N	2,91	2,52	0,9
47	MHS	2	66	X				105	28	0,9	183	54	106	22,6	113	DAC	2,09	4,49	2,66
48	MJSS	2	62	X			X	88	35	0,8	159	35	104	20	100	N	2,86	4,98	3,39
49	MSN	2	57	X	X	X	X	114	36	0,7	165	40	73,2	51,8	259	N	6,48	2,17	0,96
50	MASS	1	51	X	X	X		158	37	0,9	209	69	112	28,4	142	DAC	2,06	2,46	1,27
51	MCGS	2	52	X		X		90	19	0,8	225	55	119	51	255	N	4,64	3,45	1,69
52	NSN	2	50	X		X	X	115	28	0,7	173	35	91,6	46,4	232	N	6,63	4,02	2,25
53	NRCM	2	68	X	X	X		99	71	0,8	153	61	81,4	10,6	53	DAC	0,87	3,3	2
54	NNB	1	69	X	X	X		107	40	1,1	113	52	49,8	11,2	56	N	1,08	4,02	1,71
55	ORC	2	66	X		X	X	111	35	0,7	138	56	70,6	11,4	57	N	1,02	2,78	1,39
56	PRM	2	37	X				118	41	0,7	168	36	88,6	43,4	217	N	6,03	3,84	1,53
57	PMS	1	43			X		83	31	1	196	92	37,4	66,6	333	N	3,62	2,82	1,39
58	RAR	2	20					68	21	0,9	123	63	44,4	15,6	78	N	1,24	4,12	1,82

59	RSS	2	57	X	X	X		75	35	0,8	120	42	63,6	14,4	72	DAC	1,71	3,49	1,89
60	SNN	2	72	X	X	X	X	104	33	1,1	145	42	70,6	32,4	162	DAC	3,86	3,14	1,55
61	TJPF	2	36			X		108	22	0,7	238	41	169	28,4	142	N	3,46	3,69	2,43
62	UFC	1	77		X			91	51	0,9	184	45	118	20,6	103	N	2,29	5,68	1,35
63	VMC	2	39				X	98	27	0,8	146	51	76,8	18,2	91	N	1,78	4,72	3,28
64	VCMG	2	22					67	16	0,9	144	45	74,8	24,2	121	N	2,69	2,55	1,26
65	WFN	1	59	X	X			215	41	1,2	129	37	70,4	21,6	108	N	2,92	5,68	1,35
66	WFS	1	77	X	X	X		111	99	2,8	104	39	41	24	120	DAC	3,08	2,67	1,05

Observações:

n = 66

Códigos:

RG – registro

IDENT – identificação do paciente

GEN (Gênero): 1 – masculino; 2 – feminino

ID – idade

HAS – hipertensão arterial sistêmica

DM – Diabetes *mellitus*

DISLIP – Dislipidemia

HIPOT – Hipotireoidismo

GLIC – Glicemia

URE – Uréia

CREA – Creatinina

CT – Colesterol total

HDL – Lipoproteína de alta densidade

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade

DOP – Doppler de carótidas

IC – Índice de Castelli (I e II)

IGAZZ – Índice de Gazziano