

JULIANA TENTOR

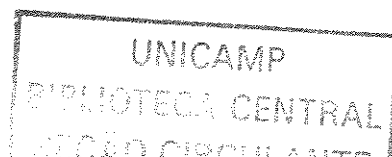
Este exemplar corresponde à versão final da
Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso
de Pós-Graduação Ciências Médicas da
Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP,
para obtenção do título de Mestre em Ciências
Médicas, área de Ciências Biomédicas do(a)
aluno(a) **JULIANA TENTOR**.
Campinas, 16 de julho de 2004.

X 
Prof(a). Dr(a). Eliana Cotta de Faria
Orientador(a)

***LIPÍDEOS SÉRICOS NO PERÍODO PÓS-ALIMENTAR:
PADRÕES DA RESPOSTA LIPÊMICA E SUA
MODULAÇÃO PELOS SEXOS***

CAMPINAS

2004



JULIANA TENTOR

***LIPÍDEOS SÉRICOS NO PERÍODO PÓS-ALIMENTAR:
PADRÕES DA RESPOSTA LIPÊMICA E SUA
MODULAÇÃO PELOS SEXOS***

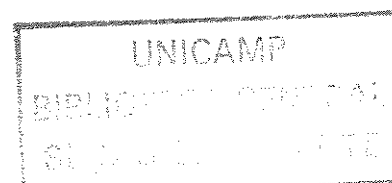
*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de
mestre em Ciências Médicas, área de Ciências
Biomédicas*

ORIENTADORA: PROF^a DR^a ELIANA COTTA DE FARIA

CO-ORIENTADORA: PROF^a DR^a LÚCIA NASSI CASTILHO

CAMPINAS

2004



UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	T261
V	EX
61976	
86	P 0086.05
PREÇO	11.00
DATA	10/02/05
Nº CPD	

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

T261 Tentor, Juliana
Lipídeos séricos no período pós-alimentar: padrões da resposta lipêmica e sua modulação pelos sexos / Juliana Tentor. Campinas, SP : [s.n.], 2004.

Orientadores : Eliana Cotta de Faria, Lúcia Nassi Castilho
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Aterosclerose. 2. Insulina. 3. Sexo. I. Eliana Cotta de Faria
II. Lúcia Nassi Castilho. III. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador(a): Prof(a). Dr(a).

Eliana Cotta de Faria

Membros:

1. Profª Drª Eliana Cotta de Faria

2. Profº Drº Edgard Ferro Collares

3. Drª Valéria Sutti Nunes

Curso de pós-graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 16/07/2004

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Aparecida e Valdir, que me deram a oportunidade, apoio, segurança e pelo amor e carinho sempre oferecido.

Às minhas irmãs, Natália e Maíra, que sempre estiveram ao meu lado.

Ao Sérgio pelos conselhos, incentivo e compreensão.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, **Profª Drª Eliana Cotta de Faria**, pela dedicação, competência e pelos ensinamentos proporcionados.

À minha co-orientadora, **Profª Drª Lúcia Nassi Castilho**, pelo apoio durante o desenvolvimento da tese.

A Aparecida de Souza Pereira e Miriam Danelon pelo grande apoio nas atividades do projeto, pela amizade e incentivo para a realização deste trabalho.

A Lila que contribuiu arduamente dando-me força e amizade.

A Maria Laura, Cláudia, Edilma e Valéria pela ajuda e apoio. E também a Águeda e Enrico pela atenção prestada.

Ao Laboratório de Lípidos da Faculdade de Medicina da USP que me proporcionou recursos.

A todos do Laboratório de Bioquímica Clínica que de certa forma me acompanharam e ajudaram durante este processo.

“A vida nos oferece o que há de melhor.

Compete-nos sabermos como e quando usufruir de seus benefícios.”

APARECIDA TENTOR

SUMÁRIO

	<i>Pág.</i>
RESUMO.....	<i>xxvii</i>
ABSTRACT.....	<i>xxxiii</i>
INTRODUÇÃO GERAL.....	37
Lipídeos do organismo humano: classificação e distribuição.....	39
Lipídeos do organismo humano: digestão e absorção.....	42
Metabolismo das lipoproteínas plasmáticas.....	45
Lipemia pós-alimentar.....	52
Lipemia pós-alimentar e sua relação com a aterosclerose.....	54
Fatores modificadores da lipemia pós-alimentar.....	59
JUSTIFICATIVA.....	71
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	75
MATERIAIS E MÉTODOS.....	79
ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	93
RESULTADOS.....	97
Trabalho Científico 1.....	99
Trabalho Científico 2.....	119

DISCUSSÃO GERAL.....	143
CONCLUSÕES GERAIS.....	151
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	157
ANEXOS.....	185
Anexo 1 - Questionário clínico.....	187
Anexos 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	189

LISTA DE ABREVIATURAS

ABCA1	proteína transportadora cassete dependente de adenosina trifosfato do tipo A1 (" <i>ATP-binding cassette transporter A1</i> ")
ACAT	ácil-colesterol aciltransferase
AG	ácido graxo
AGL	ácido graxo livre
Apo	apolipoproteína
AUC	área sob a curva
AIUC	área incremental sob a curva
CE	éster de colesterol
CETP	proteína de transferência de éster de colesterol (" <i>cholesteryl ester transfer protein</i> ")
CKK	colecistoquinina
CL	colesterol livre
COL	colesterol total
DAC	doença arterio-coronariana
DAG	diacilglicerol
FABP	proteína intestinal ligadora de ácidos graxos (" <i>fatty acid binding protein</i> ")

GIP	hormônio polipeptídeo gástrico inibitório ou peptídeo insulinotrópico glicose dependente
GLP-1	hormônio glucagon-like peptide-1
h	hora
HDL	lipoproteína de alta densidade (<i>"high density lipoprotein"</i>)
HDL₂	subfração 2 da lipoproteína de alta densidade
HDL₃	subfração 3 da lipoproteína de alta densidade
HMG-CoA redutase	3-hidróxi-3-metilglutaril coenzima A redutase
HS-Co A	ésteres de coenzima-A
FL	fosfolípide
IDL	lipoproteína de densidade intermediária (<i>"intermediate density lipoprotein"</i>)
LCAT	lecitina:colesterol aciltransferase
LDL	lipoproteína de baixa densidade (<i>"low density lipoprotein"</i>)
LH	lipase hepática
Lp(a)	lipoproteína (a)
LPL	lipoproteína lipase
LpRTAG	lipoproteína rica em triacilglicerol
LRP	proteína relacionada ao receptor de LDL (<i>"LDL receptor related protein"</i>)

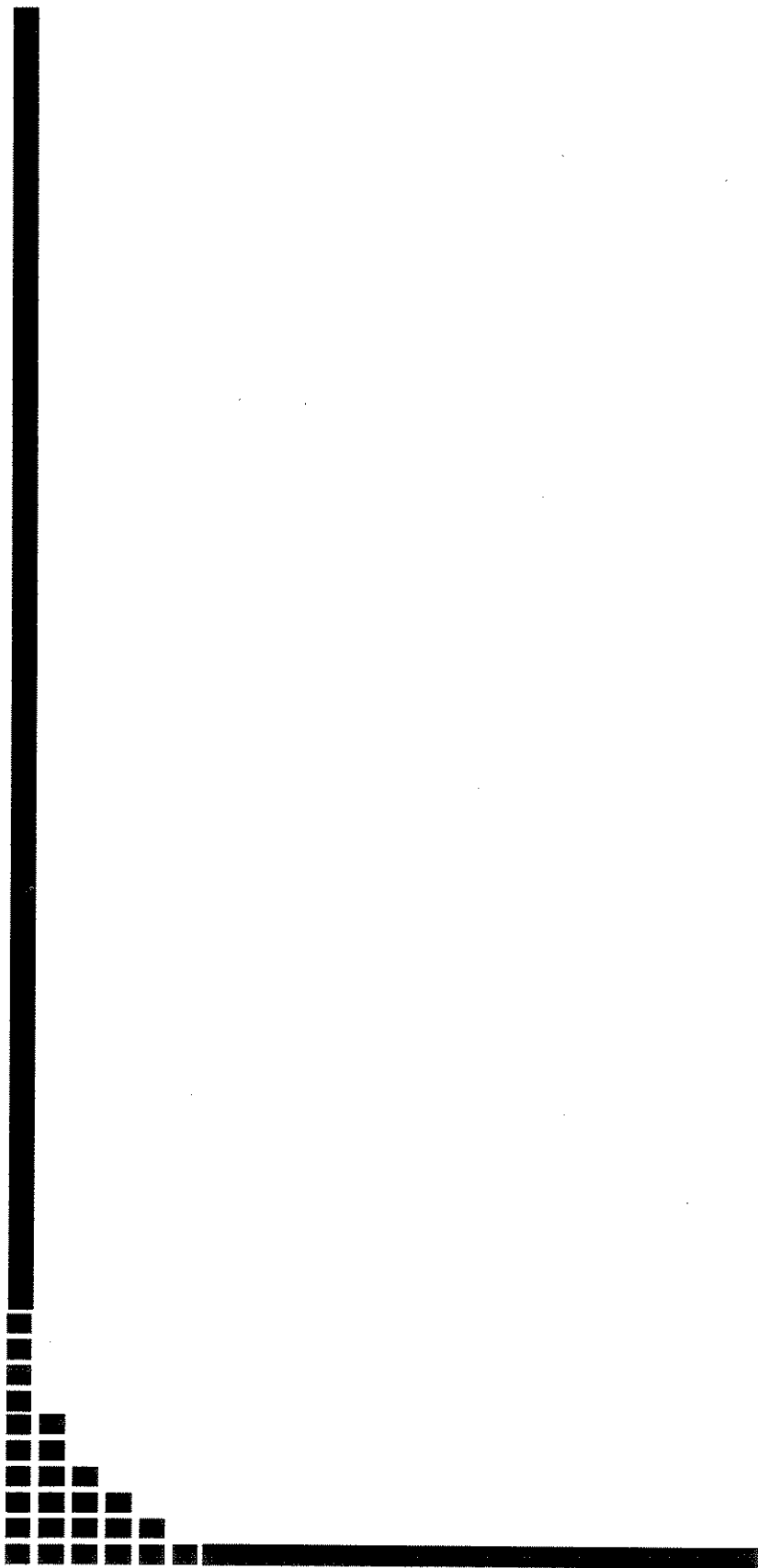
MAG	monoacilglicerol
MUFA	ácido graxo monoinsaturado
PLTP	proteína transportadora de fosfolípidos (" <i>phospholipid transfer protein</i> ")
PP	hormônio polipeptídico pancreático
PUFA	ácido graxo polinsaturado
QM	quilomícrons
QMrem	remanescente de QM
RE	retículo endoplasmático
RLP	<i>remnant-like particle</i>
SAT	ácido graxo saturado
SR-B1	receptor <i>scavenger</i> ou de varredura da classe B tipo 1
TFA	taxa fracional de aquisição
TFR	taxa fracional de remoção
VLDL	lipoproteína de densidade muito baixa (" <i>very low density lipoprotein</i> ")
VLDLrem	remanescente de VLDL

LISTA DE FIGURAS

	<i>Pág.</i>
Figura 1 - Protocolo experimental.....	83

LISTA DE QUADROS

	<i>Pág.</i>
Quadro 1 - Classificação dos Lipídeos.....	39
Quadro 2 - Composição calórica e química da refeição administrada e da dieta ocidental recomendada para homens ou mulheres adultos de acordo com o <i>Recommendation Dietary Allowances (RDA)</i> , 1989.....	85



RESUMO

A aterosclerose é uma doença multifatorial da parede arterial de caráter degenerativo, imuno-inflamatório e progressivo.

Entre os diversos fatores predisponentes para o desenvolvimento da doença arterial coronariana situa-se o aumento da lipemia no período pós-alimentar. Este é um estado em que o ser humano passa a maior parte de sua vida por ter hábitos alimentares sequenciais.

São mecanismos fisiopatológicos da aterogenicidade deste período, a deposição sub-endotelial de lipoproteínas ricas em triacilglicerol derivadas de quilomicrons e de lipoproteínas de densidade muito baixa: os remanescentes. Além disso, as lipoproteínas ricas em triacilglicerol afetam o metabolismo das lipoproteínas de alta densidade, de caráter anti-aterogênico, pois a hidrólise das primeiras gera material estrutural para as segundas e o excesso de triacilglicerol em lipoproteínas ricas em triacilgliceróis é trocado por ésteres de colesterol das lipoproteínas de densidade alta. Portanto a hipertrigliceridemia acompanha-se de redução nos níveis da lipoproteína de alta densidade, de ação antiaterogênica. Como fatores de aterogenicidade não lipídicos ocorre neste período uma tendência a um estado de maior coagulabilidade e pró-oxidante.

Avaliamos os efeitos metabólicos e pró-oxidantes dos períodos de jejum e pós-alimentar (2, 4, 6 e 8h) em uma população adulta de ambos os sexos, sem fatores de risco para doença arterial coronariana ou doença estabelecida, após a ingestão de uma dieta padronizada rica em gordura (40g gordura/m² de superfície corporal).

Analizamos vários lipídeos, lipoproteínas e a insulinemia. Foram medidas as atividades da lipoproteína lipase, da lipase hepática no jejum e da proteína de transferência de colesteril-ésteres no período de jejum e no pós-alimentar. Analizamos autoanticorpos contra a lipoproteína de baixa densidade oxidada e a espessura das camadas íntima-média das carótidas.

No primeiro trabalho científico apresentado, descrevemos em uma população de 60 sujeitos adultos jovens saudáveis à presença de três padrões de resposta de triacilgliceróis séricos à dieta, medidos por diversos parâmetros de resumo das curvas: tempo até o pico na curva de resposta de TAG, magnitude da lipemia, dos tempos e dos picos de TAG, o número de picos, o tempo até a resposta inicial, o tempo de retorno ao período basal. Os grupos são: precoces, tardios e bifásicos (o último compreendeu 50% dos sujeitos com resposta tardia).

Nos padrões tardios quando comparados aos precoces, observamos redução das concentrações do colesterol das lipoproteínas de alta densidade nos períodos de jejum e pós-alimentar, da insulina no pico de TAG, e aumento das concentrações dos ácidos graxos pós-alimentares. A resposta da atividade da proteína de transferência de colesteril-ésteres após dieta foi ausente no grupo bifásico. Sugerimos que o quadro de resistência à insulina, com menor insulinemia, e a não resposta da proteína de transferência de colesteril-ésteres facilitem o aumento da geração de lipoproteínas ricas em triacilgliceróis e seus remanescentes, que tendo um maior tempo de residência no plasma são mais oxidadas e apresentam a capacidade de depósito sub-endotelial nas artérias. A redução da concentração de ácidos graxos pós-alimentares sugere uma captação tecidual aumentada em consequência do aumento da atividade da lipoproteína lipase observado no jejum.

Os níveis de autoanticorpos contra a lipoproteína de baixa densidade oxidada nos grupos de resposta tardia correlacionaram-se positivamente com a espessura íntima-média de carótidas ($r=0,54$; $p=0,048$) e como esperado com a pressão arterial sistólica e a colesterolemia de jejum. Estes resultados sugerem participação da lipoproteína de baixa densidade oxidada na aterogênese no padrão tardio. Também houve forte correlação positiva entre a espessura íntima-média de carótidas e a área sob a curva de triacilgliceróis ($r=0,65$; $p=0,008$), indicando participação da resposta tardia no maior risco cardiovascular destes indivíduos.

No segundo trabalho científico descrevemos a modulação da resposta pós-alimentar pelos sexos. Os objetivos deste foram o de quantificar as diferenças do jejum e pós-alimentares entre os sexos, em uma população de 25 mulheres e 24 homens adultos jovens saudáveis, nos diversos parâmetros: lipídicos, de lipoproteínas e apolipoproteicos associado-os a biomarcadores da doença aterosclerótica e o de determinar os seus reguladores metabólicos.

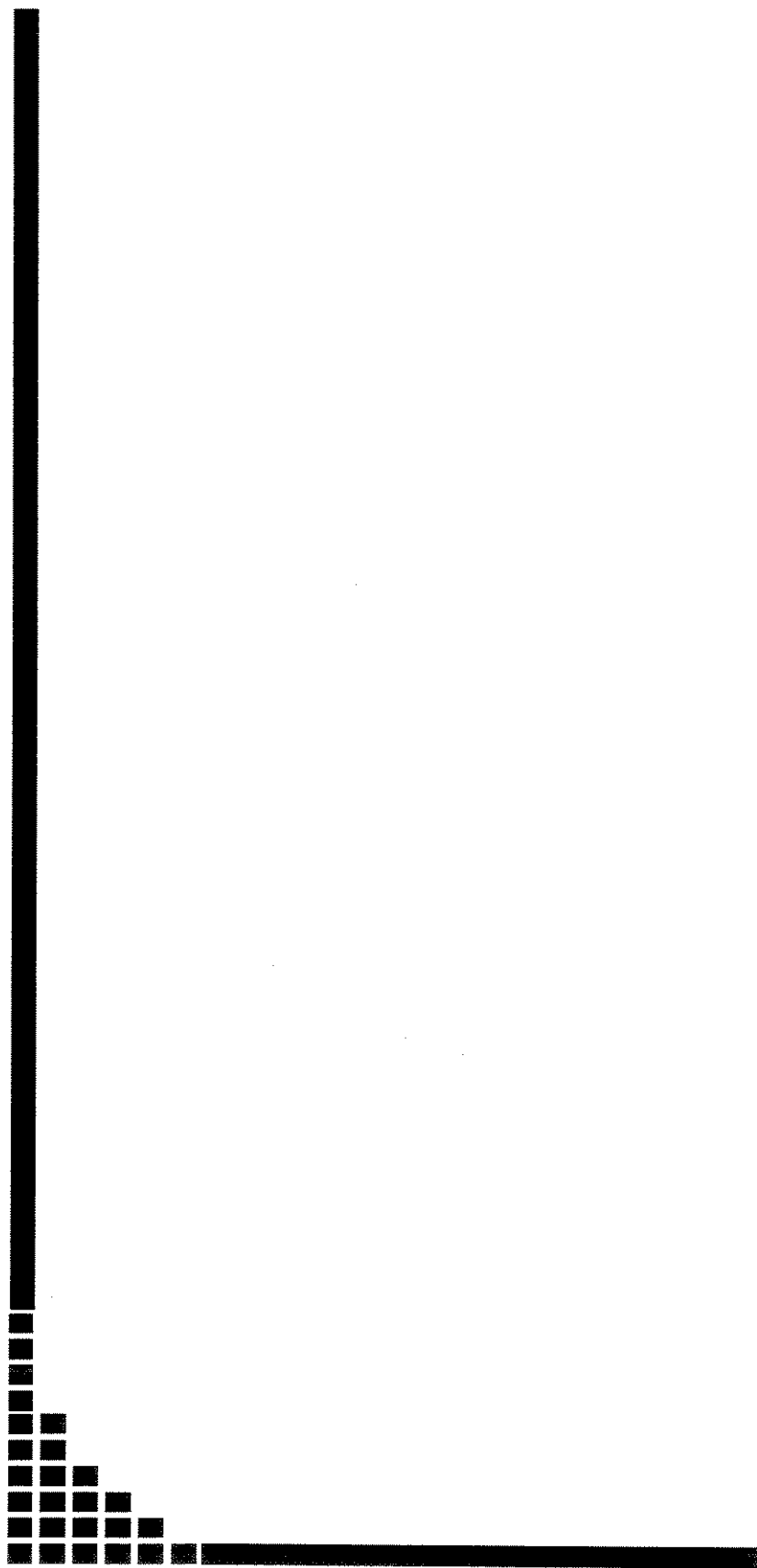
Houve maior lipemia às custas de triacilgliceróis, triacilgliceróis e colesterol de lipoproteínas ricas em triacilgliceróis, ácidos graxos livres, fosfolípidos e apolipoproteína B100 no homem; o homem removeu menos colesterol de lipoproteínas ricas em triacilgliceróis, incorporou mais ácidos graxos e menos lipoproteína de alta densidade.

Usando o modelo de análise de regressão multivariada verificou-se uma regulação mais complexa da lipemia nas mulheres, explicada pela correlação com a idade ($R^2=45\%$), fosfolipidemia ($R^2=39\%$), os ácidos graxos livres ($R^2=29\%$), a circunferência de cintura ($R^2=19\%$), a insulinemia ($R^2=17\%$), a atividade da lipoproteína lipase ($R^2=16\%$) e a atividade da proteína de transferência de colesteril-ésteres ($R^2=6\%$). Em homens, explicamos a maior lipemia no homem pela insulinemia ($R^2=55\%$) e fosfolipidemia ($R^2=37\%$).

Apenas no homem houve associação negativa entre autoanticorpos contra a lipoproteína de baixa densidade oxidada e a repostada lipêmica, em triacilgliceróis ($r=-0,52$; $p=0,01$), sugerindo uma maior formação de imunocomplexos. Também se encontrou apenas no homem correlação positiva entre autoanticorpos contra a lipoproteína de baixa densidade oxidada e a espessura íntima-média de carótidas ($r=0,48$; $p=0,03$), indicando um maior desenvolvimento das placas ateromatosas no homem.

Além disso, os homens apresentaram com relação às mulheres aumento de triacilgliceróis no jejum, maior pressão arterial sistólica e da espessura íntima-média de carótidas, e redução de HDL-colesterol e Apo AI caracterizando um estado de múltiplo risco para a doença arterial coronariana.

Portanto, a regulação da lipemia pós-alimentar entre os sexos, por fatores antropométricos e metabólicos distintos, pode explicar as diferentes respostas lipêmicas à refeição rica em gordura.



ABSTRACT

Atherosclerosis is a multifactorial, immuno-inflammatory and progressive disease of the arterial wall. Postprandial lipemia is associated with an increased risk of coronary artery disease.

The metabolic and pro-oxidant effects in fasting and postprandial (2, 4, 6 and 8h) periods were measured in an adult population of both sexes, without risk factors for coronary artery disease or established disease, after a fat meal containing 40g fat/m² body surface.

Several lipids, lipoproteins, cholesteryl ester transfer protein activity, insulinemia, lipoprotein lipase, hepatic lipase, the autoantibodies against oxidized low-density lipoprotein and the carotid intima-media thickness were measured.

In the first scientific paper we evaluated in an adult population (n=60) of both sexes the triacylglycerol response patterns after a fat standardized meal on several lipids and metabolic parameters in the fasting and postprandial periods. Three triacylglycerol response patterns were observed. They were classified according to the time to peak in the triacylglycerol response curves, the magnitude of lipemia, of all the times and of TAG peaks, the number of peaks, the time from baseline values to initial response and the time to return to baseline values. The groups were: early, late and biphasic responders. Among late responders 50% presented a biphasic pattern.

We observed in late responders as compared to the early group a lower HDL-cholesterol and insulin concentration in the fasting and/or postprandial periods, and this could favor an increase in circulating triacylglycerol-rich lipoproteins. Also cholesteryl ester transfer protein activity did not increase after the meal.

Only in late responders there was a strong positive correlation between carotid intima-media thickness and the area under the TAG curve ($r=0.65$, $p=0.008$), suggesting a higher cardiovascular risk in this group.

The autoantibodies against oxidized low-density lipoprotein correlated positively with carotid intima-media thickness ($r=0.54$, $p=0.048$), blood pressure and fasting cholesterol all suggestive of atherosclerotic disease.

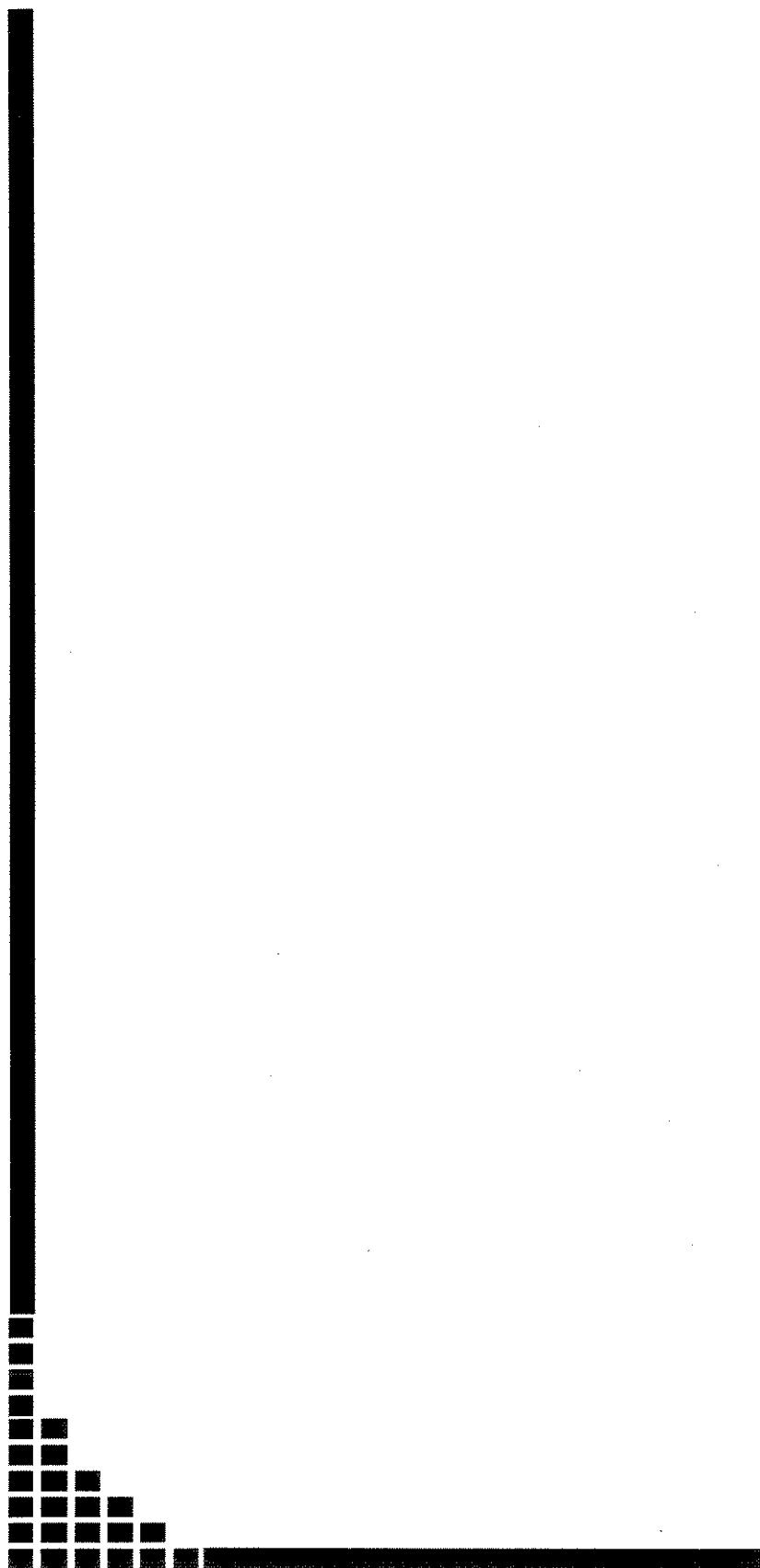
In the second scientific paper we described the modulation of postprandial lipemia by sex. The objective was to quantify the differences of several parameters (lipids, lipoproteins and apolipoproteins) in a population of 25 women and 24 men adult healthy, and to measure the association of lipemia with the atherosclerosis biomarkers and to establish the metabolic and anthropometric lipemia regulators.

Besides a larger postprandial lipemia, men presented higher baseline blood pressure, carotid intima-media thickness, triacylglycerol, cholesterol and triacylglycerol of triacylglycerol-rich lipoprotein, free fatty acids, phospholipids, apolipoprotein B100 and a decreased HDL-cholesterol and apolipoprotein AI as compared to women.

The multivariate analysis pointed to very different regulators of lipemia between the sexes, more numerous and some peculiar to women: age ($R^2=45\%$), phospholipids ($R^2=39\%$), free fatty acids ($R^2=29\%$), waist circumference ($R^2=19\%$), lipoprotein lipase ($R^2=16\%$), insulin ($R^2=17\%$) and cholesteryl ester transfer protein ($R^2=6\%$); in men insulin ($R^2=55\%$) and phospholipids ($R^2=37\%$).

Only in men there was a negative correlation between autoantibodies against oxidized low-density lipoprotein and triacylglycerol lipemia ($r=-0.52$, $p=0.01$), suggesting a larger formation of immunocomplexes. Also, a positive correlation of intima-media thickness with autoantibodies against oxidized low-density lipoprotein ($r=0.48$, $p=0.03$), suggested more atherosclerosis in men, confirmed by the higher carotid intima-media thickness.

In summary, the regulation of postprandial lipemia by different anthropometric and metabolic factors determines the different lipemic responses to a fat meal between the sexes.



INTRODUÇÃO GERAL

LIPÍDEOS DO ORGANISMO HUMANO: CLASSIFICAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO

Os lipídeos são moléculas essenciais para a vida. São fontes de energia direta ou indireta para a oxidação celular, moléculas fundamentais na digestão, servem como isoladores térmicos no tecido subcutâneo e isoeletrico da condução nervosa. Atuam funcionalmente e estruturalmente nas biomembranas celulares.

Os lipídeos compreendem uma classe ampla de substâncias solúveis em solventes orgânicos e relativamente insolúveis em água. Podem ser divididos em cinco classes principais de acordo com RIFAI *et al.* (1999) (Quadro 1).

Os ácidos graxos (AG) são formados por cadeias de hidrocarbonetos com um grupo carboxila em uma terminação e um grupo metila na outra. São classificados pelo comprimento da cadeia de hidrocarbonetos ou número de carbonos (Quadro 1), pela localização da primeira dupla ligação mais próxima do grupo carboxila (alfa, beta, gama e ômega) e pela posição das duplas ligações (saturados - SAT, ex. ácido palmítico; monoinsaturados - MUFA, ex. ácido oléico; e poliinsaturados - PUFA, ex. ácido aracdônico) (McGARRY, 1997).

Quadro 1 - Classificação dos Lipídeos

Ácidos graxos	Cadeia curta (2 a 4 átomos de carbonos)
	Cadeia média (6 a 10 átomos de carbonos)
	Cadeia longa (12 a 26 átomos de carbonos)
	Prostaglandinas
Ésteres de gliceróis	Triacilgliceróis
	Fosfoglicérides ou fosfolípidos
Derivados de esteróis	Colesterol e éster de colesterol
	Hormônios esteroidais
	Ácidos biliares
	Vitamina D
Derivados de esfingosina	Esfingomielina
	Glicoesfingolipídeos
Terpenos	Vitamina A, E e K

O organismo humano é capaz de sintetizar ácidos graxos como SAT, MUFA e PUFA, com exceção do ácido linoléico e linolênico, chamados de ácidos graxos essenciais por serem fundamentais para o metabolismo dos seres humanos. A síntese de AG no fígado e tecido adiposo ocorre a partir de duas unidades de Acetil-CoA e envolve a AG sintase e a AG carboxilase. A oxidação ocorre na mitocôndria e peroxissomos (MAHLEY *et al.*, 2002). Os acilgliceróis ou ésteres de glicerol são constituídos por moléculas de AG ligados ao glicerol. O tipo de acilglicerol depende do número de grupamentos álcoois esterificados.

Uma molécula de glicerol pode adquirir por esterificação até três moléculas de AG em sua estrutura, formando assim os monoacilgliceróis (MAG) ligados na posição 1, 2 ou 3; diacilgliceróis (DAG) esterificados na posição 1 e 2 ou 2 e 3; ou triacilgliceróis (TAG) (O'KEEFE, 1998). A síntese de TAG ocorre por reesterificação de AG de cadeia longa principalmente no intestino, fígado e tecido adiposo pela acilCoA:diacilglicerol aciltransferase. A sua hidrólise tecidual depende da atividade da lipase hormônio sensível e a plasmática da LPL (MAHLEY *et al.*, 2002). Um outro grupo importante de lipídeos contém ácido fosfórico na posição 3 da cadeia de glicerol, e é denominado de fosfoglicérides ou fosfolípidos (FL).

O colesterol (COL) é um esteroide formado por quatro anéis de hidrocarbonetos e uma cadeia lateral de oito carbonos. É precursor de hormônios esteroidais, gonadais, de ácidos biliares e compõem a estrutura das membranas celulares (MAHLEY *et al.*, 2002; CAMEJO e HURT-CAMEJO, 2000). Pode ser adquirido diariamente através da dieta, apresentando uma absorção intestinal de cerca de 40-60% da ingestão, sendo que a dieta típica ocidental fornece entre cerca de 1000-1200 mg/dia total (BOSNER *et al.*, 1999; OSTLUND *et al.*, 1999). A eficiência da absorção do COL está positivamente correlacionada com a sua concentração no plasma (MIETTINEN e KESANIEMI, 1989).

O COL é também sintetizado endogenamente na proporção de 9-12 mg/kg de peso corporal por dia, variando conforme as condições de ingestão dietética (BRODY, 1994). A síntese endógena do COL é regulada através da concentração de COL intracelular e plasmático. Quando em concentrações aumentadas, podem ocorrer três

situações de compensação: 1) o bloqueio da atividade da 3-hidróxi-3-metilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA redutase), enzima chave na biossíntese de COL; 2) a inibição da síntese de receptores de LDL, diminuindo a captação das lipoproteínas ricas em COL pelas células; e 3) o aumento da atividade da acil-colesterol aciltransferase (ACAT) que mantém o COL na forma esterificada, armazenando em gotículas no citoplasma e evitando sua saída para o plasma (DIETSCHY *et al.*, 1993; GARCIA e OLIVEIRA, 1992).

No plasma, dois terços do COL apresentam-se na forma esterificada (ésteres de colesterol - CE) e o restante como colesterol livre (CL) (MAHLEY *et al.*, 2002). A enzima responsável pela esterificação do CL plasmático é a lecitina:colesterol aciltransferase (LCAT), e dentro das células é a ACAT. A ACAT nos enterócitos participa em aproximadamente 75% da esterificação do COL absorvido (DAWSON e RUDEL, 1999).

No fígado, o COL pode ser convertido em ácidos biliares pela ação da enzima colesterol 7-alfa-hidroxilase (GARCIA e OLIVEIRA, 1992). A absorção de COL da dieta, a reabsorção dos ácidos biliares intestinais pela circulação entero-hepática onde mais de 95% dos ácidos biliares e cerca de 50% do COL biliar são reabsorvidos, e a secreção de colesterol pela bile, mantém o balanço homeostático de COL no organismo (DIETSCHY *et al.*, 1993; MAHLEY *et al.*, 2002; DAWSON e RUDEL, 1999). Na bile são secretados cerca de 800 a 1200 mg de CL por dia (BRODY, 1994).

Os ácidos biliares são derivados de esteróis de caráter anfipático sintetizados pelo fígado, em cerca de 200-400 mg/dia e armazenados na vesícula biliar. São posteriormente liberados no duodeno para promover a digestão e absorção dos lipídeos dietéticos. Apresentam uma ação detergente de solubilização destes compostos (VOET *et al.*, 2000) formando micelas para a ação da lipase pancreática (BRODY, 1994). As micelas são compostas por 92% de água, 6% de sais biliares, 0,3% de COL e pequenas quantidades de bilirrubina, AG, FL (na forma de fosfatidilcolina) e sais. São glóbulos esféricos formados por um grupo superficial apolar hidrossolúvel de moléculas de sais biliares envolvendo um núcleo de esteroide lipossolúvel. O tamanho micelar depende das concentrações de ácidos biliares e da razão entre conteúdo de ácidos biliares e lipídeos presentes (BROOM, 2000).

LIPÍDEOS DO ORGANISMO HUMANO: DIGESTÃO E ABSORÇÃO

A digestão dos TAG é iniciada pela ação enzimática das lipases lingual e gástrica, produzidas e ativadas na boca e na mucosa fúndica gástrica do estômago. Estas lipases são responsáveis pela hidrólise de 10-30% da gordura dietética total ingerida, cuja ação na posição 3 das moléculas de TAG, liberam DAG e ácidos graxos livres (AGL) (HAMOSH, 1979). A atividade dessas lipases pode variar conforme os tipos de AGL ligados aos gliceróis ingeridos ou por alterações do pH no estômago.

Os produtos da degradação do TAG são transportados para o intestino (duodeno) estimulando a produção da lipase pancreática que atua na digestão e hidrolisando completamente os TAG, preferencialmente nas posições 1 e 3, e liberando os AGL e 2-monoacilgliceróis (MU, 2004). Somente uma pequena parte do TAG ingerido é completamente hidrolisada em AGL e glicerol (BROOM, 2000).

A lipase pancreática é uma enzima da mesma família da lipase gástrica, encontrada nos acinos pancreáticos e localizada inativa dentro dos grânulos zimogênio junto a outras enzimas do suco pancreático a serem secretadas no lúmen intestinal. Esta enzima pode ser estimulada pela ação de hormônios gastrointestinais como a colecistoquinina e secretina, e é inativada em presença dos sais biliares. Concomitantemente à estimulação pancreática, ocorre a liberação da colipase. Esta enzima liga-se simultaneamente à interface lipídeo-água e à lipase possibilitando a ativação desta e a formação de complexos bile-lipase e lipídeos (LOWE, 2002; MILED *et al.*, 2000). A regulação pós-alimentar das secreções digestivas por colecistoquinina consiste de estimulação pancreática e um mecanismo de retro-regulação inibitória que controla a secreção de lipase gástrica (BOROVICKA *et al.*, 1997).

Outros hormônios gastrointestinais podem modular o processo de digestão dos lipídeos. Os hormônios polipeptídeo gástrico inibitório ou peptídeo insulinoatrópico glicose dependente (GIP), que estimulam a produção de insulina na presença de hiperglicemia, reduzem a motilidade intestinal e inibem as secreções gástricas (YIP e WOLFE, 2000). A motilina, produzida em quase toda a extensão do trato gastrointestinal e responsável pela redução da motilidade gastrointestinal e o esvaziamento gástrico, e o polipeptídeo

pancreático (PP), inibem a contração pancreática, aumentam a motilidade intestinal, o esvaziamento gástrico e o relaxamento dos esfíncteres e da vesícula biliar (HENDERSON, 1998). O hormônio peptídeo glucagon-símile (*glucagon-like peptide-1*, GLP-1), apresenta importante papel na regulação do apetite, na modulação da motilidade gastrointestinal, no esvaziamento gástrico e também pode inibir a liberação de outros hormônios como a insulina e glucagon (NASLUND *et al.*, 1999; SCHIRRA *et al.*, 2000).

Os FL são degradados no intestino delgado a lisofosfolípides e AGL pela ação da enzima fosfolipase A₂ liberada junto ao suco pancreático. Esta enzima requer componentes como o cálcio e ácidos biliares para sua ativação e é estabilizada em pH ótimo de 8 a 9 (VOET *et al.*, 2000).

A digestão do COL na forma de CE inicia-se no intestino onde pela ação direta da enzima carboxil éster hidrolase pancreática ou colesterol esterase, forma CL e outros produtos dessa hidrólise como os AGL (SMALL, 1970). Ácidos biliares são ativadores desta enzima (ERLANSON, 1975).

Após a formação de produtos da lipólise pancreática (AGL, 2-monoglicerídeos, lisofosfolípides, CL e vitaminas lipossolúveis) em pH alcalino do intestino, ocorre a solubilização destes pela ação detergente dos ácidos biliares. Estes desempenham um papel importante na remoção de produtos apolares de degradação, com a formação de micelas que solubilizam os lipídeos e possibilitam a passagem destas moléculas para o meio aquoso do lúmen intestinal, onde entram em contato com as bordas em escova das membranas celulares. O mecanismo de absorção intestinal dos produtos lipolizados ocorre por difusão passiva no jejuno proximal e o dos ácidos biliares no íleo por transporte ativo (ROS, 2000). Os lipídeos solubilizados em micelas são dissociados na superfície luminal dos enterócitos, atravessam a monocamada adjacente de água e são absorvidos via gradiente de concentração (STANGE e DIETSCHY, 1985; WESTERGAARD, 1976).

No citoplasma, os monoacilgliceróis, lisofosfolípides, AGL e CL são direcionados ao retículo endoplasmático (RE) através de proteínas intestinais ligadoras de ácidos graxos (*fatty acid binding protein*, FABP). As FABP são proteínas citoplasmáticas

expressas nos enterócitos que facilitam o transporte dos lipídeos pelo citosol, aumentando a solubilidade dos compostos insolúveis em água, reduzindo o potencial efeito citotóxico dos AGL e protegendo as células dos efeitos detergentes dos ácidos biliares (CAMEJO e HURT-CAMEJO, 2000; VOET *et al.*, 2000).

No interior do RE dos enterócitos, a ação de enzimas específicas sobre o AGL resulta na formação de ésteres de coenzima-A (HS-CoA) que ressintetizam TAG, FL e CE. Ao mesmo tempo, no RE liso das células intestinais é sintetizada a apolipoproteína (Apo) B48. Os lipídeos ressintetizados e a Apo B48, com a ajuda da proteína de transferência de triacilgliceróis microssomal, são empacotado e iniciam a formação estrutural das lipoproteínas intestinais denominadas de quilímícrons (QM) (CARTWRIGHT e HIGGINS, 2001; HUSSAIN, 2000). Estes são transferidos para o complexo de Golgi, onde se ligam às Apo AI e AII da superfície. Posteriormente, são transportados por via linfática, ductos torácicos e finalmente chegam à circulação sistêmica (CAMEJO e HURT-CAMEJO, 2000). O intestino também tem a capacidade de sintetizar a Apo B100 secretando VLDL intestinais grandes e ricas em TAG (RISSER *et al.*, 1978).

O TAG dietético gera um aumento da trigliceridemia após a ingestão de 40-50 g na refeição. A composição do TAG, determinada pelos tipos de AG quanto ao comprimento da cadeia ou saturação, pode interferir diretamente no tipo de absorção deste lipídeo (RAMÍREZ *et al.*, 2001). A maior parte dos lipídeos de uma dieta normalmente consiste de TAG de cadeia longas, absorvidos mais lentamente pelo organismo, pois precisam ser hidrolisados no intestino, reesterificados e incorporados nos QM dentro dos enterócitos, a partir do qual circularam pelo sistema linfático antes de chegar à circulação sanguínea e ducto torácico. Por outro lado, os TAG de cadeia curta e média são somente hidrolisados gastricamente e rapidamente absorvidos na mucosa gástrica e intestinal por transporte passivo e são transportados via sistema porta para o fígado na forma de AGL ligados à albumina sérica ou monoacilgliceróis. Por isso, são considerados fontes de energia imediata (AKOH, 1998; BRACCO, 1994).

A absorção de COL, em especial, também pode ocorrer por difusão passiva simples através de gradiente de concentração com a ajuda de proteínas específicas como: receptores *scavenger* ou de varredura da classe B tipo I (SR-BI) e a proteína transportadora dependente de trifosfato de adenosina do tipo A1 (ABCA1) (TURLEY e DIESCHY, 2003).

Os receptores *scavenger* estão presentes nas bordas em escova das células epiteliais do intestino delgado e na superfície dos hepatócitos e tecidos esteroideogênicos da adrenal, ovários e cérebro (RIGOTTI *et al.*, 2003). Sua expressão pode ser regulada por estímulos hormonais e dietas ricas em lipídeos (SRIVASTAVA, 2003). A isoforma mais comum deste receptor é o da classe B tipo 1 (SR-B1), cujo papel fisiológico é de captar CE das partículas de lipoproteínas de densidade alta (HDL) (RIGOTTI *et al.*, 2003). No intestino, o SR-B1 atua na absorção dos esteróis, com uma contribuição 25% para CL (WENDER *et al.*, 2001) e outros lipídeos da dieta como TAG e FL (HAUSER *et al.*, 1998).

IQBAL *et al.* (2003) sugere que o transporte de colesterol nos enterócitos ocorra através de duas vias diferentes: a via dependente ou a independente das lipoproteínas que contém Apo B, com diferentes especificidades para o CE e o CL. A via dependente de Apo B contribui significativamente para o transporte de COL durante o período pós-alimentar, visando o transporte de CE e pré-absorvendo também o CL. A outra via, independente de Apo B, pode ser a mais importante no estado de jejum e durante a ingestão de dietas ricas em COL, podendo ter um papel importante na homeostasia celular do CL. O efluxo de COL por ambas as vias é mediado por ABCA1.

O ABCA1 nos enterócitos apresenta a função de facilitar o efluxo do COL dietético para dentro do lúmen promovendo a formação dos QM (PLAT e MENSINK, 2002). A sua expressão é regulada em conjunto por heterodímeros como o receptor X hepático (LXR) e o receptor X retinóide (RXR) (COSTET *et al.*, 2000; REPA *et al.*, 2000). O tipo de AG ingerido pode alterar o efluxo de COL, mediado pelo ABCA1, a ser absorvido no intestino delgado (BROUSSEAU *et al.*, 2003). WANG e ORAM (2002) demonstraram em culturas de células *in vitro* que os AG insaturados, linoleato e oleato, afetam o efluxo pós-alimentar do COL em até 4 e 16 horas, respectivamente, reduzindo ou inibindo a expressão desta proteína durante este período.

METABOLISMO DAS LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS

Os lipídeos são transportados no plasma sob a forma de lipoproteínas que são complexos macromoleculares associados a proteínas denominadas apolipoproteínas. Cinco classes são descritas conforme sua composição química e densidade: QM, lipoproteínas de

densidade muito baixa (VLDL - *very low density lipoprotein*), lipoproteínas de densidade baixa (LDL - *low density lipoprotein*), lipoproteínas de densidade intermediária (IDL - *intermediate density lipoprotein*) e lipoproteínas de alta densidade (HDL - *high density lipoprotein*) (MAHLEY *et al.*, 2002).

Os QM são lipoproteínas ricas em TAG de origem exógena que transportam 98-99% de lipídeos da dieta (85-90% de TAG e 10-15% de COL e FL) e 1-2% de proteínas. São caracterizados por apresentarem uma baixa densidade ($<0,95$ g/mL), diâmetros de 750 a 6.000 Å (MAHLEY *et al.*, 2002), e diferenciados pela quantidade de TAG e COL dietético (YU e COOPER, 2001). Possuem somente as Apos B48, AI e AII, sendo as duas últimas transferidas posteriormente às HDL. Durante a circulação linfática, os QM adquirem as Apo E de outras lipoproteínas hepáticas, além de Apos CII e CIII que são transferidas da HDL (CAMEJO e HURT-CAMEJO, 2000; MAHLEY *et al.*, 2002).

A Apo E é sintetizada no fígado e tem um papel fundamental no catabolismo das lipoproteínas ricas em TAG (QM e VLDL) e seus remanescentes. Através da sua afinidade liga as lipoproteínas aos receptores da superfície celular dos hepatócitos, como os receptores de LDL ou B/E e à proteína relacionada ao receptor de LDL (LRP) (WEISGRABER, 1994).

Receptores como o de VLDL e a glicoproteína 330 também estão envolvidos no metabolismo de lipoproteínas que contêm Apo E. O receptor de VLDL está presente nos tecidos periféricos que metabolizam AG derivados de VLDL e atua na depuração da lipoproteínas ricas em TAG.

A glicoproteína 330 tem o poder de ligar-se a Apo E e LDL, mas a sua função ainda não é entendida (MAHLEY *et al.*, 2002).

Os QM ligam-se através da Apo E aos proteoglicanos contendo sulfato de heparan na superfície celular endotelial, onde ocorre a ação lipolítica pela lipoproteína lipase (LPL), enzima que atua principalmente na hidrólise do TAG, resultando em moléculas de glicerol, MAG ou DAG (CAMEJO e HURT-CAMEJO, 2000). Os AG, quando na sua forma livre, são denominados de ácidos graxos livres (AGL) e transportados na circulação associados à albumina plasmática.

A LPL é constituída por 448 aminoácidos e o gene é expresso em vários tecidos do organismo, principalmente nas células adiposas e musculares. No endotélio vascular, a LPL apresenta uma importante função no metabolismo de lipoproteínas plasmáticas, ligando-se à interface das lipoproteínas e hidrolisando as moléculas de TAG a glicerol e AGL. Estes AGL, ligados à albumina, são utilizados como fonte de energia imediata para os músculos ou estocados no tecido adiposo. A insulina é um estimulador endotelial da síntese de LPL (ONG e KERN, 1989). A atividade da LPL é regulada pela ligação com os proteoglicanos de sulfato de heparan no endotélio (ZAMBON *et al.*, 1996) e pela concentração das Apo CII e CIII, respectivamente seus co-fatores positivo e negativo (BEISIEGEL *et al.*, 1991). A LPL possui também funções não-enzimáticas de caráter anti-aterogênico, aumentando a interação das lipoproteínas com os receptores LRP na superfície endotelial e assim estimular a remoção de partículas remanescentes aterogênicas para o fígado (BEISIEGEL *et al.*, 1991; GOLDBERG e MERKEL, 2001). A sua deficiência pode constituir um potencial risco para o desenvolvimento de doença artério-coronariana (DAC) devido ao aumento da trigliceridemia e redução de HDL-COL (EVANS e KASTELEIN, 2002).

O processo de hidrólise ocorre em cascata e continua a ser estimulado até que a concentração de TAG da lipoproteína diminua em 20 a 50% (NCEP III, 2001), as Apo AI, AII e C sejam transferidas para a HDL e ocorra diminuição do diâmetro das partículas, formando o chamado remanescente de QM (QMrem), que se desliga do endotélio em direção ao fígado (CAMEJO e HURT-CAMEJO, 2000). A meia vida dos QM na circulação é muito curta, inferior à uma hora (DOMINICZAK, 2000).

Os QMrem, enriquecidos de CE obtidos endogenamente das HDL, continuam circulantes até alcançar os sinusóides hepáticos (CAMEJO e HURT-CAMEJO, 2000). Com mais Apo E incorporados na partícula, os QMrem ligam-se aos hepatócitos através de proteoglicanos por interação iônica sob a ação da lipase hepática (LH), reduzindo mais seu conteúdo em TAG. São reconhecidos pelos receptores hepáticos por afinidade à Apo E (o receptor de LDL e o LRP) e são internalizados pelos hepatócitos (CAMEJO e HURT-CAMEJO, 2000; WATTS *et al.*, 1998). A remoção destas partículas pelo fígado é dependente da expressão e da função dos proteoglicanos de sulfato de heparan nos hepatócitos (ZENG *et al.*, 1998).

A LH, semelhantemente a LPL, é uma enzima lipolítica do metabolismo das lipoproteínas que hidrolisa TAG e FL (LABODA *et al.*, 1986) de QMrem, IDL (SHAFI *et al.*, 1994) e de HDL (PATSCHE *et al.*, 1984). É sintetizada pelos hepatócitos e localizada nos sinusóides hepáticos aderidas aos sulfatos de heparan (DOOLITTLE *et al.*, 1987). Metabolicamente, a LH está relacionada com a remoção rápida e eficiente de lipoproteínas como QM e β -VLDL para dentro das células, pela sua ação sobre a ligação destas aos proteoglicanos e ao LRP (KRAPP *et al.*, 1996; VERGES *et al.*, 2004). A elevada atividade desta enzima sobre o TAG e FL leva à formação de LDL menores e mais densas (ZAMBON *et al.*, 1993). A deficiência de LH é caracterizada pelo aumento TAG, COL e produção alterada de partículas de LDL (YAMAZAKI *et al.*, 2004).

As VLDL apresentam uma estrutura menor em tamanho (300 - 700 Å) e maior em densidade (< 1,006 g/mL), com composição de 85% - 90% de lipídeos, (55% TAG, 15% FL e 20% COL, sendo 7% CL e 13% CE) e 10 - 15% de proteínas, dentre elas as Apo B100 (versão hepática da Apo B), CI, CII, CIII e E (MAHLEY *et al.*, 2002). Representam de 10-15% do COL total sérico (NCEP III, 2001). São partículas de origem endógena, sintetizadas pelo fígado e intestino, cujo tempo de meia-vida na circulação é de apenas algumas horas. As VLDL estão sujeitas ao mesmo processo de metabolização dos QM, exceto pela mediação da proteína de transferência de triacilglicerol microssomal, que liga o TAG a Apo B100 da lipoproteína facilitando o transporte do TAG para a HDL.

As VLDL ricas em CE originam-se através da ação da proteína de transferência de éster de colesterol (CETP) nas HDL, e com reduzida quantidade de TAG pela ação da LPL formam os remanescentes de VLDL (VLDLrem). Estas partículas são captadas por receptores hepáticos específicos, o de LDL e o LRP, através do seu conteúdo de Apo E e Apo B100, e sob ação da LH geram as LDL (CAMEJO e HURT-CAMEJO, 2000).

As LDL são partículas potencialmente aterogênicas devido a sua alta concentração em COL (representam 60-70% do COL total plasmático) (MAHLEY *et al.*, 2002; NCEP III, 2001) e pela sua capacidade de modificações químicas na sua estrutura e, conseqüentemente, no seu comportamento biológico. Uma dessas modificações é a oxidação levando à formação de LDL oxidada. Neste processo, os radicais

livres decorrentes do metabolismo celular seqüestram radicais hidrogênio de AG insaturados das lipoproteínas, modificando seu arranjo molecular e sua função. As apolipoproteínas também podem desenvolver o mesmo processo, com modificação da sua estrutura e função (VAUGHAN, 1997; HEINECKE, 1999).

AS LDL apresentam uma densidade de 1,019 - 1,063 g/mL, diâmetro de 200 Å e composição de 75% de lipídeos (35% CE, 10% CL, 10% TAG e 20% FL) e 25% de proteínas, constituída principalmente de Apo B-100 e traços de Apo E. Apresentam uma meia vida de 2 a 3 dias na circulação. Parte das LDL presentes no plasma é catabolizada nos hepatócitos via receptores B/E ou receptores de LDL (MAHLEY *et al.*, 2002). Este processo inicia-se pela interação das partículas de LDL com os receptores de alta afinidade em depressões revestidas (*coated pits*) por clatrina (proteína elástica) na membrana celular. As LDL são internalizadas por invaginações que formam vesículas endocíticas as quais fundem-se com lisossomos intracelulares. As LDL então sob a ação de enzimas hidrolíticas, transformando apolipoproteínas em aminoácidos e os lipídeos (CE, TAG e FL) em substratos menores, liberando-os posteriormente no citoplasma (CAMEJO e HURT-CAMEJO, 2000; GARCIA e OLIVEIRA, 1992).

A Apo B100 é mediadora de ligação das LDL aos receptores de LDL. Apresenta uma afinidade menor ao receptor do que as Apo E contidas nas partículas de VLDL e IDL plasmáticas. Estas lipoproteínas, portanto, competem por afinidade pelo mesmo receptor caracterizando o elevado nível de LDL plasmático quando as Apo E de remanescentes, VLDL e IDL estão aumentadas (MAHLEY *et al.*, 2002).

As HDL representam 20-30% do COL total no plasma (NCEP III, 2001). São caracterizadas como partículas esféricas com diâmetro de 70-120 Å, densidade de 1,063-1,210 g/mL e compostas por 50% de lipídeos (25% FL, 15% CE, 5% AGL e 5% TAG) e 50% de proteínas, sendo principalmente as Apo AI (65%) e AII (25%), e menores quantidades de Apo C e E adquiridas de outras lipoproteínas (LDL e VLDL) durante o metabolismo. Apresentam-se como duas subclasses principais: HDL₂ (d = 1,063-1,125 g/mL) e HDL₃ (d = 1,125-1,21 g/mL) (MAHLEY *et al.*, 2002).

Podem ser originadas de três fontes metabólicas diferentes: do fígado, com a geração de partículas nascentes de HDL constituídas de um disco contendo FL e Apo AI; do intestino, através da síntese direta de pequenas partículas de HDL contendo Apo AI; e pela hidrólise no plasma de partículas ricas em TAG (como os QM, QMrem e VLDL), que durante o processo lipolítico liberam os componentes da superfície (Apo AI, FL e CL) e formam a HDL discoidal no plasma (CAMEJO e HURT-CAMEJO, 2000; GARCIA E OLIVEIRA, 1992; MAHLEY *et al.*, 2002).

A HDL nascente ou a pré-beta HDL, ao entrar em contato com outras lipoproteínas no plasma e interstício (GARCIA e OLIVEIRA, 1992), remove o CL e os FL dos tecidos extra-hepáticos através de adsorção passiva de COL da membrana celular, por um gradiente de concentração físico-químico, ou por transporte facilitado pela proteína transportadora na superfície celular denominada ABCA1 (KWITEROVICH, 2000; ORAM e LAWN, 2001). O ABCA1 é uma proteína que facilita o transporte de CL e FL das células para a HDL, e o potencializador desta ligação é a Apo AI, que por sua vez, apresenta uma maior afinidade ao FL e conseqüentemente, promove o efluxo deste substrato antes do efluxo do CL (OKUHIRA *et al.*, 2004; KNIGHT, 2004).

Para manter a alta hidrofobicidade da HDL, o CL obtido é convertido em CE pela ação da enzima LCAT, tendo a Apo AI o seu co-fator positivo (MAHLEY *et al.*, 2002). Com a formação de núcleos ricos em CE, as HDL tornam-se menos densas, maiores e mais esféricas, dando origem às HDL₂. Estas partículas possuem aderidas na superfície a Apo AI ou Apo AI e AII, podendo também incorporar Apo E na sua estrutura (GARCIA e OLIVEIRA, 1992; MAHLEY *et al.*, 2002).

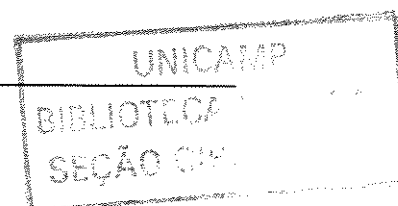
O CE da fração HDL₂ é transportado para o fígado por duas vias distintas: a via indireta e a direta. Na via indireta, mediada pela CETP, o CE das HDL₂ é inicialmente transferido para QM, QMrem, VLDL e LDL, recebendo em troca os TAG. Esta é a principal via responsável pelo transporte de CE. Pela via direta, o TAG e FL da HDL₂ circulante é hidrolisada pela LH, modificando a sua composição e aumentando a massa protéica, e o CE é transferido para o fígado através de receptores específicos SR-B1 (RIGOTTI *et al.*, 2003).

A HDL pode também ser internalizada por receptores de HDL inespecíficos e posteriormente degradada intracelularmente (KWITEROVICH, 2000). As HDL₂ ricas em TAG, por sua vez, são continuamente hidrolisadas por LH, convertendo-as em partículas mais densas e menores que exercem a função de aceptoras de CL e reiniciam o ciclo de captação do COL no organismo (MAHLEY *et al.*, 2002; GARCIA E OLIVEIRA, 1992; PATSCH *et al.*, 1984).

A CETP tem um papel fundamental no transporte reverso de colesterol. Os CL são removidos dos tecidos extra-hepáticos pela HDL e convertidos a CE pela LCAT. Os CE, armazenados na HDL, são transportados para as lipoproteínas ricas em triacilgliceróis (LpRTAG) em troca dos TAG para as HDL (GARCIA e OLIVEIRA, 1992). Este processo leva a uma diminuição de colesterol na HDL e aumenta o potencial pró-aterogênico das partículas de VLDL e LDL. A secreção de CETP está diretamente relacionada com o acúmulo intracelular de CE, sugerindo que esta proteína transportadora influencia a manutenção da homeostase de COL durante a diferenciação celular e a sua resposta a um excesso de COL (YAMASHITA *et al.*, 2001). A deficiência de CETP constitui em alguns estudos um fator de risco negativo para doenças coronarianas e ocasiona várias modificações na concentração, composição e funções de algumas lipoproteínas, como as HDL e LDL (RITSCH *et al.*, 1997).

A PLTP é uma outra proteína de transferência de lipídeos que tem como função promover o transporte de FL das lipoproteínas ricas em TAG para as HDL durante a lipólise, gerando as pré-beta HDL (LAGROST *et al.*, 1998; YAMASHITA *et al.*, 2001; LIE *et al.*, 2001).

A Lp(a) é uma lipoproteína produzida pelo fígado semelhante à da LDL, contendo a apolipoproteína (a) ligada à Apo B100. Esta Apo(a) apresenta uma semelhança estrutural com a molécula do plasminogênio tecidual. As concentrações séricas das Lp(a) são determinadas geneticamente e não apresentam influências ambientais significativas. Vários estudos têm sugerido que valores séricos elevados de Lp(a) constituem fator de risco independente para doença aterosclerótica (KOSCHINSKY e MARCOVINA, 2004).



LIPEMIA PÓS-ALIMENTAR

A lipemia pós-alimentar é compreendida por uma série de respostas metabólicas decorrentes da absorção de lipídeos dietéticos. A duração deste período depende do balanço entre esvaziamento gástrico e remoção de partículas remanescentes de origem exógena, os QMrem, pelo fígado (YU e COOPER, 2001). Neste período, também ocorre a presença de partículas de origem endógena (VLDL) pela grande quantidade de TAG disponibilizada pela dieta. Estas lipoproteínas são denominadas de LpRTAG.

No jejum, as LpRTAG exógenas e seus remanescentes estão em menor número, não excedendo 10% do número de partículas de VLDL e são responsáveis por 80% do aumento da trigliceridemia pós-alimentar (COHN *et al.*, 1993). As partículas de LpRTAG de origem endógena constituem 96-97% das LpRTAG totais no período de jejum e 91-96% no estado pós-alimentar, o que mostra o reduzido número de LpRTAG de origem exógena circulantes (SHARRET *et al.*, 1995; KARPE *et al.*, 1999). As VLDL são responsáveis por 90% do aumento do COL nas LpRTAG (KARPE *et al.*, 1993).

A formação das lipoproteínas pós-alimentares é regulada por diversos mecanismos metabólicos que determinam a proporção de QM, VLDL e seus remanescentes no organismo. Estes mecanismos podem ser definidos pela competição por afinidade aos receptores hepáticos ou pelos sítios ativos da LPL, responsável preferencialmente pela lipólise de partículas grandes e pela secreção de insulina. A relação de depuração dos QM e remanescentes no período pós-alimentar pode ser afetada principalmente pelo número destas partículas no plasma, que por processo de saturação, ocasiona a diminuição da lipólise e depuração de remanescentes (MARTINS *et al.*, 1996).

Alguns trabalhos caracterizaram sujeitos com mais de um pico de TAG durante o período pós-alimentar, sugerindo que o primeiro pico de TAG seja decorrente de estoques de QM (de refeições anteriores) armazenados nos enterócitos ou nos vasos linfáticos intestinais (MATTES, 2002; FIELDING, 1996). ROBINS (1989) propõe que o primeiro pico é resultado da ingestão da dieta oferecida e o segundo, observado na 6ª hora, é explicado pela elevada produção de VLDL com a remoção preferencial dos QM pelos receptores hepáticos.

A hipertrigliceridemia de jejum é um fator de risco independente para a DAC. Este estado envolve vários mecanismos, como o da ação direta das LpRTAG na parede arterial e a sua ação pró-coagulante, e pode estar acompanhada da obesidade, hipoalfalipoproteinemia e resistência à insulina. Estudos recentes apontam a hipertrigliceridemia como um fator positivo também para a evolução da doença aterosclerótica coronariana (AUSTIN, 1998; MILLER *et al.*, 1998; MALLOY e KANE, 2001; STAVENOW e KJELLSTROM, 1999) e está positivamente correlacionada com o pico da resposta de TAG (RYU *et al.*, 1994). Sujeitos com elevada trigliceridemia de jejum podem ter exagerada e prolongada lipemia pós-alimentar provocando o acúmulo de LpRTAG no espaço subendotelial dos vasos, promovendo o desenvolvimento do processo aterosclerótico (GROOT *et al.*, 1991; PROCTOR e MAMO, 1998; WEINTRAUB *et al.*, 1996).

Como os receptores hepáticos captam as lipoproteínas por afinidade à Apo E, os remanescentes de LpRTAG, QMrem ou VLDLrem apresentam esta apolipoproteína em sua composição como um único fator diferencial quantitativo: as VLDL têm mais apo E, o que determina a sua maior afinidade pelos receptores.

Durante a lipemia pós-alimentar ocorre um aumento na secreção hepática de partículas grandes de VLDL (HAVEEL *et al.*, 1973). O acúmulo destas durante o estado pós-alimentar é determinado pela competição existente com o QM pelos sítios ativos da LPL, responsável pela lipólise preferencial a dos QM (BRUNZELL *et al.*, 1973; BJÖRKEGREN *et al.*, 1996; KARPE *et al.*, 1993). Isso ocorre porque as partículas maiores apresentam maiores quantidades de substratos (TAG) para a ação lipolítica da LPL (BJÖRKEGREN *et al.*, 1996).

A secreção de insulina é um importante fator durante o período pós-alimentar e é estimulada pelo estado de hiperglicemia pós-alimentar. Este hormônio tem um papel fundamental no metabolismo de lipídeos pela sua função anabólica em casos de excesso de glicose plasmática, promovendo a síntese de AGL e TAG no fígado, gerando novas lipoproteínas, e promovendo lipogênese no tecido adiposo. Também é um estimulador da atividade da LPL (MARZZOCO e TORRES, 1999). No estado pós-alimentar, a insulina pode modular as LpRTAG intestinais que contém Apo B48, sendo que elevadas

concentrações deste hormônio induzidas pelo tipo de dieta ingerida, aumentam o acúmulo destas partículas no último estágio da fase pós-alimentar (HARBIS *et al.*, 2001). A hipertrigliceridemia de jejum e pós-alimentar, geralmente associadas à resistência insulínica, leva ao aumento da secreção hepática de VLDL (CUMMINGS *et al.*, 1995; KISSEBAH *et al.*, 1982), ocasionada pelo aumento dos substratos para a produção de TAG e diminuição da depuração de LpRTAG mediada pela LPL (GROOP *et al.*, 1991).

Pela dificuldade de se estudar as LpRTAG, vários métodos foram desenvolvidos para determinação quantitativa dos seus lipídeos, dentre os quais destaca-se a medida de partículas semelhantes aos remanescentes (RLP, *remnant-like particle*) utilizando anticorpos monoclonais (anti-Apo AI e anti-Apo B) que refletem as concentrações de lipídeos nas LpRTAG (NAKAJIMA *et al.*, 1993). Pelo método da medida quantitativa da hidrólise de TAG das LpRTAG pela LPL durante o período pós-alimentar, pode-se observar um aumento na resposta da atividade da LPL e uma correlação inversa entre as áreas sob a curva de LPL e a de TAG ou COL-RLP (PRUNETTA-DELOCHE *et al.*, 2004).

LIPEMIA PÓS-ALIMENTAR E SUA RELAÇÃO COM A ATEROSCLEROSE

A aterosclerose é uma doença crônico-degenerativa da parede arterial, de caráter inflamatório, progressiva e silenciosa, que acomete especialmente a rede vascular miocárdica, cerebral e periférica causando altas taxas de morbi-mortalidade na população mundial e brasileira. É decorrente da deposição de lipídeos na parede arterial após a ocorrência de lesão endotelial (ROSS, 1999)

O mecanismo de deposição dos QMrem nas paredes arteriais é iniciado no compartimento plasmático, onde em contato com o endotélio celular, ocorrem alterações desta estrutura promovendo a adesão de monócitos. Em seguida, estas partículas entram no espaço subendotelial através de transcitose que pode ser dependente da duração e magnitude da resposta pós-alimentar. O acúmulo destas LpRTAG exógenas, junto à retenção de proteoglicanos, induzem a expressão de moléculas de adesão que estimulam a entrada de monócitos para dentro da região íntima da artéria onde serão diferenciados a macrófagos. Os macrófagos captam os QMrem e outras lipoproteínas encontradas através

de receptores endocíticos e ativam a esterificação do COL das partículas pela ativação da enzima ACAT, resultando na formação de células espumosas. Estas células formadas podem retornar à circulação onde serão depuradas ou continuar na íntima com a morte do macrófago, levando ao aumento do volume de placas e a secreção de agentes oxidantes que oxidam os lipídeos e proteínas destas lipoproteínas. Este processo aumenta a resposta inflamatória e a captação de lipoproteínas oxidadas via receptores *scavengers*, levando a migração de células do músculo liso da camada média para este compartimento. As células musculares lisas encontradas na camada média das artérias vão para a íntima mediada por fatores mitogênicos secretados pelos macrófagos. Estas células iniciam a proliferação que é elaborada pela matriz extracelular e pode captar remanescentes similarmente aos macrófagos levando a formação de novas células espumosas (HUFF, 2003).

A exagerada lipemia pós-alimentar está diretamente ligada à deposição de lipoproteínas remanescentes pós-alimentares no espaço subendotelial arterial (MAMO *et al.*, 1997) e indiretamente ao aumento da formação de partículas de LDL pequenas e densas derivadas de VLDL grandes e ricas em TAG (PATSCHE, 1992). CALLOW *et al.* (2002) verificaram alterações na composição das LDL no período pós-alimentar em dietas com diferentes quantidades e tipos de lipídeos. Houve um maior enriquecimento de COL e TAG nas partículas nas dietas ricas em lipídeos quando comparada a de baixo teor de gordura. LASSEL *et al.* (1999) demonstraram que a absorção de lipídeos, ao gerar a secreção de QM, pode induzir a HDL a atuar como doadora de CE para QM mediada pela CETP.

Em 1979, ZILVERSMIT evidenciou que o aumento de LpRTAG no estado pós-alimentar estaria positivamente relacionado ao desenvolvimento de doença aterosclerótica. Este achado seria, em parte, explicado por uma remoção mais lenta de remanescentes das lipoproteínas ricas em TAG (QMrem e VLDLrem) no período pós-alimentar, com sua deposição na região subendotelial das artérias. Tal hipótese tem sido explorada intensamente por diversos autores com o intuito de demonstrar a resposta alimentar de diferentes tipos de dieta em sujeitos com perfis variados, normais ou patológicos, no metabolismo e deposição nas artérias (ZILVERSMIT, 1995; AUSTIN, 1998; KARPE, 1999; HAVEL, 2000; ROCHE e GIBNEY, 2000; PROCTOR *et al.*, 2002).

A aterogenicidade das partículas remanescentes intestinais e hepáticas das LpRTAG (PATSCHE *et al.*, 1992; PHILLIPS *et al.*, 1993) está vinculada ao seu tamanho e tempo de residência na circulação. Os QMrem menores são mais susceptíveis à penetração arterial e apresentam tempo de circulação semelhante as VLDL de similar tamanho (KARPE *et al.*, 1997). No plasma, a concentração de partículas de VLDLrem é 10 vezes mais alta que a de QM, e na lipemia pós-alimentar ocorre a formação de partículas ricas em TAG contendo principalmente Apo B100, sugerindo um papel menor dos QMrem na aterogênese (KARPE *et al.*, 1999). Por outro lado, MAMO *et al.* (1997) discordam desta proposição baseada no fato de que a quantidade de COL transportado nos QM é proporcional à quantidade de COL transportada pelas lipoproteínas que contém Apo B100.

Embora a depuração retardada dos QMrem esteja certamente associada a doenças cardiovasculares (SHARRETT *et al.*, 1995; WEINTRAUB *et al.*, 1996), estudos clínicos demonstram também o papel das VLDL no desenvolvimento de doenças artério-coronarianas (PHILLIPS *et al.*, 1993).

Nas lesões ateroscleróticas humanas são encontradas quantidades significativas de depósito de LpRTAG (RAPP *et al.*, 1994). Estudos experimentais têm demonstrado que os QMrem são rapidamente retidos no espaço subendotelial por mecanismos endocíticos (PROCTOR e MAMO, 1998; PROCTOR *et al.*, 2002), sendo este 10 vezes menor que a da VLDLrem. Quando corrigido para a concentração de COL existente na partícula de QMrem, foi verificado que a retenção deste lipídeo na partícula é 4 vezes maior quando comparada a de LDL (PROCTOR *et al.*, 2002), o qual pode ser ocasionado, além do acúmulo preferencialmente de lipoproteínas (ROSS, 1999), de outros produtos como a LDL oxidada (HEINECKE, 1997). Dados obtidos em nosso laboratório (não publicados) indicam que existe uma intensa resposta de anticorpos anti-LDL oxidada no período pós-alimentar.

Estudos em macrófagos utilizando LpRTAG oxidadas mostraram que os CE se acumulam em maiores quantidades que outros lipídeos (WHITMAN *et al.*, 1997). Resultados similares também foram obtidos em células de músculo liso quando os QMrem e LDL foram comparados (YU e MAMO, 1997). Tal fato sugere que a quantidade de COL pode ser o fator que leva à grande aterogenicidade desses remanescentes. A rápida lipólise

dos QMrem também indica que estes são grandes contribuintes do transporte de COL plasmático, podendo ser potenciais causadores do processo aterosclerótico (HAVEL, 2000).

BJÖRKEGREN *et al.* (1997 e 1998) demonstraram que a lipemia pós-alimentar leva a alterações na composição de apolipoproteínas e lipídeos das partículas ricas em TAG. Um aumento no conteúdo de TAG, COL e Apo CII foi observado nos QMrem maiores; entretanto, o conteúdo de Apo CII foi significativamente maior e de Apo CI menor nos QMrem pequenos que nas VLDL pequenas. No período pós-alimentar, o conteúdo de Apo CIII dos QM maiores diminui e das VLDL grandes aumenta, tornando este processo mais aterogênico devido à menor hidrólise dessas partículas pela LPL.

Baixas concentrações plasmáticas de HDL-COL no período pós-alimentar podem ser aterogênicos pelo acúmulo de LpRTAG (altas concentrações de TAG plasmático) e pela menor eficiência do metabolismo de HDL durante o período pós-alimentar (PATSCHE *et al.*, 1987). No estado pós-alimentar ocorre um aumento da atividade da CETP promovendo trocas lipídicas entre QM e HDL, tornando a HDL mais rica em TAG (HDL₂). Esta HDL₂ é hidrolisada pela ação da LH, convertendo-a em HDL menores que são rapidamente catabolizadas, reduzindo assim a sua concentração (PATSCHE *et al.*, 1984). Segundo PATSCHE *et al.* (1983), as concentrações da subfração HDL₂ e a magnitude da lipemia pós-alimentar estão inversamente relacionados.

Um outro aspecto importante da aterogenicidade da lipemia pós-alimentar é sua interação com o processo de trombose, no qual elevada concentração de LpRTAG tem a habilidade de ativar o fator VII de coagulação, o inibidor de ativação de plasminogênio, e aumentar a adesividade plaquetária e as moléculas de adesão de células na parede arterial (ROCHE e GIBNEY, 2000).

Um medidor da lesão aterosclerótica utilizado na literatura é a espessura da camada íntima-média (EIM) arterial. HALUSKA *et al.* (2004), em estudo comparativo entre grupos com risco para o desenvolvimento da DAC, com DAC e o grupo de controles saudáveis, identificaram que o segundo grupo tem EIM significativamente maior que os outros dois, e que os preditores para o risco e desenvolvimento da DAC nesse grupo, quando comparado com sujeitos normais foram: idade, sexo, tabagismo, EIM, hipercolesterolemia e hipertensão.

No estudo de GARIEPY *et al.* (1998) foi demonstrado que homens, quando comparados às mulheres, apresentam significativamente menor HDL-COL e maiores IMC, pressão arterial, concentrações de COL, TAG, glicose plasmática, EIM de carótidas e femorais, e risco de doença coronariana. Uma correlação significativa foi observada entre o EIM de carótidas e a idade, índice de massa corporal (IMC), pressão arterial, COL e glicose em ambos os sexos, assim como com o fumo nos homens e TAG nas mulheres.

KARPE *et al.* (1998) demonstraram em homens saudáveis de meia idade uma melhor correlação entre EIM e concentração de TAG pós-alimentares tardios do que com concentrações LpRTAG que contém Apo B48 e Apo B100. Em um outro grupo com características semelhantes, verificou-se que o TAG pós-alimentar é um forte determinante de aterosclerose prematura, independente dos outros fatores de risco como hipertensão arterial, tabagismo, hipercolesterolemia e idade, do LDL-COL e principalmente do TAG de jejum (BOQUIST *et al.*, 1999).

No estudo de Framingham (McNAMARA *et al.*, 2001), foi demonstrado em um grupo de mulheres que o COL de remanescentes é um fator de risco independente para doenças do coração, enquanto que em homens de meia idade é positivo e independente dos parâmetros de TAG e LDL-COL plasmáticos (KARPE *et al.*, 2001).

Sujeitos com aterosclerose assintomática, após ingestão de dieta rica em gordura, apresentam um número similar de partículas grandes de QMrem, mas as concentrações de TAG são duas vezes maiores quando comparados aos sem aterosclerose. Nos com aterosclerose, tanto as partículas grandes e pequenas de QMrem são enriquecidas com Apo CI no período pós-alimentar, entretanto, somente o número de moléculas de Apo CI das partículas menores de QMrem está positivamente associado com valores de EIM do grupo patológico (BJÖRKEGREN *et al.*, 2002).

RYU *et al.* (1994) demonstraram que o EIM das carótidas correlaciona-se positivamente com a gordura intra-abdominal, o pico da resposta de TAG e o hábito de fumar sendo prognosticada pelos dois últimos parâmetros. A gordura intra-abdominal está fortemente associada ao EIM ($R^2 = 0,64$).

FATORES MODIFICADORES DA LIPEMIA PÓS-ALIMENTAR

O metabolismo de lipoproteínas no período pós-alimentar pode ser influenciado positiva ou negativamente por diversos fatores: sexo, genéticos, idade, peso corporal, tipo de dieta e consumo de álcool, exercício físico, drogas e algumas patologias.

Sexo

Os homens apresentam maior risco para o desenvolvimento de DAC que as mulheres (LERNER e KANNEL, 1986; WINGARD *et al.*, 1983), enquanto que no período pós-menopausa, esta defasagem diminui, embora continue a diferença entre eles.

As mulheres, no estado de jejum, apresentam menores concentrações plasmáticas de TAG, LDL-COL e relação de COL/HDL-COL e maior relação de HDL₂-COL/ HDL₃-COL quando comparadas aos homens. Este fato pode estar relacionado a uma maior atividade da LPL e menor da LH observada nas mulheres (DESPRÉS *et al.*, 2000; CARR, 2001). Um dos processos fisiológicos que poderia explicar a diferença da atividade da LH entre os sexos está relacionado aos hormônios esteroidais (TIKKANEN e NIKKILA, 1987) e à distribuição da gordura corporal que nos homens encontra-se na região abdominal e nas mulheres na região glúteo-femural (LEMIEUX *et al.*, 1993). Outro estudo mostrou que, comparados às mulheres, os homens apresentam maior índice de gordura intra-abdominal, atividade da LH e número de LDL pequenas e densas, e menores concentrações plasmáticas de HDL₂-COL.

Por outro lado, SCHAEFER *et al.* (1982) demonstraram que no jejum, quando comparadas aos homens, as mulheres apresentam um aumento do HDL-COL do plasma correspondente à fração HDL₂-COL, e um aumento de proteínas, FL e COL e uma diminuição de TAG na composição da HDL. A HDL-COL está inversamente correlacionada com concentração de TAG e a alta concentração de Apo AI deve-se à elevada síntese desta proteína que tem tempo de residência curto no plasma. Entretanto, nos homens foi observada uma correlação inversa da HDL com as concentrações de VLDL e maiores concentrações de VLDL-COL.

Um estudo caracterizando diferenças entre os sexos no jejum revelou que as mulheres, independentemente do estado de menopausa, apresentam tamanho de HDL e concentrações de Lp:AI maiores do que os homens, sendo a Lp:AI um fator determinante da Apo AI, da concentrações de HDL-COL e do tamanho de HDL, os quais podem estar sendo influenciados pelo efeito do estrogênio circulante na mulher (LI, 1996), fator este que diminui a atividade da LH (GRANFONE *et al.*, 1992).

Uma metanálise feita a partir de estudos prospectivos baseados em 17 populações distintas demonstrou que a elevada concentração de TAG plasmático está relacionada com um aumento do risco de doenças cardiovasculares, sendo que o acréscimo de 90 mg/dL de TAG plasmático aumenta o risco de doenças cardiovasculares em 32% nos homens e em 76% nas mulheres (HOKANSON e AUSTIN, 1996).

O tecido adiposo visceral, mais resistente à insulina do que o subcutâneo e mais abundante no homem, é um importante fator que contribui para a deficiência da depuração de gordura pós-alimentar observada em homens comparados com mulheres. Pode ocorrer prejuízo do metabolismo de AGL e TAG, por aumento da lipólise visceral e redução do estoque de lipídeos no tecido adiposo subcutâneo, aumentando a lipemia pós-alimentar (SEJDA *et al.*, 2002). A resposta lipolítica pós-alimentar mostrou-se significativamente diferente entre os sexos, com uma maior liberação de AGL no sexo masculino do que no feminino (JENSEN, 1995). A gordura intra-abdominal é 30 cm² maior em homens do que em mulheres, embora as mulheres apresentem maior porcentagem de gordura corporal, massa de gordura corporal, concentrações plasmáticas de HDL-COL e relação LDL/Apo B de LDL, e por outro lado, menor peso, altura, gordura abdominal visceral, concentrações plasmáticas de COL, LDL-COL e insulina de jejum que os homens (WELTMAN *et al.*, 2003).

ROMANSKI *et al.* (2000), através do uso de dieta com traços de AG radioativo e biópsia do tecido adiposo, verificaram uma diferença entre os sexos no metabolismo do tecido adiposo no estado pós-alimentar, onde as mulheres armazenam maior quantidade de gordura dietética no tecido adiposo subcutâneo do que os homens.

Num estudo comparativo com análise do músculo esquelético de homens e mulheres no período pós-alimentar, verificou-se que as mulheres apresentam maior contribuição deste músculo na depuração dos lipídeos pós-alimentares por reterem quantidades maiores de lipídeos no músculo quando comparadas aos homens, e assim acabam gerando menos TAG circulantes (HORTON *et al.*, 2002).

Diferenças entre os sexos também são verificadas no tamanho das LDL. As mulheres apresentam maior diâmetro e menor densidade desta lipoproteína. LEMIEUX *et al.* (2002) determinaram que a diferença do tamanho da LDL entre os sexos não pode ser explicada somente pelo estado de dislipidemia com alto nível de TAG e baixo de HDL-COL, e a obesidade visceral mais freqüentemente encontrada nos homens sugere a ocorrência de outros fatores associados.

Fatores genéticos

Interferências genéticas na resposta lipêmica têm sido bem documentadas na literatura. O genótipo de Apo E pode influenciar diferentemente o perfil lipídico da resposta pós-alimentar, e conseqüentemente, propiciar o desenvolvimento da DAC. No plasma, podem ser encontrados diferentes isoformas de Apo E, formado pelos fenótipos E2, E3 ou E4, que determinam seis diferentes genótipos: E2/2, E3/2, E4/2, E3/3, E4/3 e E4/4. O alelo E3 é o mais comum nos humanos, o alelo E2 e E4 estão associados, respectivamente, com baixos e altas concentrações plasmáticas de COL e LDL-COL (FRIKKE-SCHMIDT, 2000; KOLOVOU *et al.*, 2003).

O polimorfismo de Apo E pode explicar em parte a variabilidade do TAG em adultos. A trigliceridemia pós-alimentar em sujeitos que possuem o alelo E2 é maior e naqueles com isoforma E4 é menor, enquanto que no homozigoto E3/E3 foi verificado um aumento da resposta pós-alimentar mais tardia ou extensa, independente do TAG de jejum. As concentrações plasmáticas de LpRTAG contendo Apo B48 e Apo B100 pós-alimentares estão aumentadas na presença do alelo E4 (DALLONGEVILLE *et al.*, 1999).

A variabilidade genética do gene da apolipoproteína E pode aumentar a absorção e a resposta lipêmica pós-alimentar do COL, pela sua maior afinidade aos receptores (BJÖRKEGREN *et al.*, 1998; NIKKILA *et al.*, 1994). A resposta à ingestão de dietas ricas em gordura sobre os parâmetros de TAG e conteúdos lipídicos e apolipoproteicos de lipoproteínas ricas em TAG plasmáticas foi mais prolongada nos portadores de alelos E2 e E4 quando comparados ao E3 (BERGERON e HAVEL, 1996; DALLONGEVILLE *et al.*, 1999). A influência dos diferentes alelos de Apo E na depuração dos QMrem em sujeitos normolipidêmicos mostrou que o alelo E2/2 tende a ter maior área sob a curva de QMrem com retardo na depuração destas partículas, e não estão relacionadas aos valores de jejum (ORTH *et al.*, 1996). O genótipo E2 promove a formação de LDL de diâmetros menores no jejum e os E4 (E2/4, E3/4 e E4/4) apresentam HDL menores tanto nos períodos de jejum e pós-alimentar, e com concentrações séricas diminuídas de TAG quando comparados ao E3 (DART e COOPER, 1999).

A trigliceridemia de jejum, pós-alimentar, a AUC e o pico de TAG em adultos jovens normais têm-se mostrado maiores para o alelo E2 que para os E3/3, mas quando ajustados pelo estado de jejum, esta diferença é encontrada somente na 6ª hora após ingestão de dieta rica em gordura. Os sujeitos portadores do alelo E4 mantiveram a resposta de TAG entre os de E2 e E3, caracterizando nestes últimos uma deficiência na depuração do TAG plasmático (DALLONGEVILLE *et al.*, 1999). TANAKA *et al* (1998) também demonstraram nos portadores do genótipo E3/4 que as concentrações de COL e TAG de remanescentes estão mais elevadas nos estados de jejum e pós-alimentar, apresentando uma correlação significativa entre este genótipo e a concentração de lipídeos nos RLP pós-alimentares. Já na hiperlipemia familiar combinada, há o predomínio dos alelos E3/3 e E3/4, sendo que o último demonstra maiores concentrações de TAG plasmático de jejum, e consequentemente no período pós-alimentar (REIBER *et al.*, 2003).

Quanto aos polimorfismos do gene da lipoproteína lipase HindIII e PvuII, foi demonstrada uma associação do alelo HindIII positivo (H+) e/ou do genótipo homozigoto H+/H+ com elevadas concentrações plasmáticas de TAG e baixos de HDL-COL no período pós-alimentar (AHN *et al.*, 1993; VOHL *et al.*, 1995), enquanto que a presença de PvuII (P+) tem se correlacionado com elevado TAG sérico basal.

REIBER *et al.* (2003) determinaram os efeitos dos polimorfismos HindIII e PvuII do gene da LPL sobre a trigliceridemia de jejum e pós-alimentar de sujeitos normolipidêmicos e dislipidêmicos com hiperlipemia familiar combinada. Foi verificado que os genótipos HindIII não tem relação com o TAG de jejum, mas apresentam uma diferença significativamente maior na 6ª hora no tipo H+/H+ quando comparado ao H-/H- e H+/H- de normolipidêmicos. Para o polimorfismo PvuII não foi mostrado nenhum efeito dos diferentes genótipos no período pós-alimentar em ambos os grupos, normolipidêmicos e dislipidêmicos.

Mutações no gene de apolipoproteínas também influenciam a resposta pós-prandial. Uma mutação na região promotora do gene a apolipoproteína AI, onde ocorre a substituição G→A, pode afetar negativamente a lipemia pós-alimentar de sujeitos com o genótipo G/G, com a redução das concentrações de COL, LDL-COL e Apo B, mas não nos portadores do alelo G/A (MARÍN *et al.*, 2002). O alelo G/A apresenta maior resposta pós-alimentar de partículas de LpRTAG grandes do que os G/G. Na mutação no gene da Apo AIV (Thr347Ser), a presença do alelo heterozigoto 347Ser reduz a magnitude da lipemia pós-alimentar e aumentar as concentrações plasmáticas de LDL-COL. Isso decorre da maior produção de Apo AIV que são transportados pelo QM, resultando em maior hidrólise e depuração hepática destas partículas, e elevação de partículas de LDL-COL na circulação. Este aumento também é proporcionado pela elevada produção de VLDL precursoras de LDL (OSTOS *et al.*, 1998). Por outro lado, no polimorfismo Q360H do gene da Apo AIV, os portadores do alelo heterozigoto (genótipo 1/2) podem desenvolver uma deficiência na depuração das lipoproteínas ricas em TAG, podendo ser um fator positivo de risco para o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas (HOCKEY *et al.*, 2001), fato esse que não ocorre em homozigotos (genótipo 1/1).

Idade

Na infância, os perfis de COL, TAG, LDL-COL e HDL-COL são semelhantes entre os sexos. Após a puberdade, as concentrações de HDL-COL diminuem no sexo masculino (cerca de 20%) com relação ao feminino por ação androgênica, porém ocorre um

aumento de TAG, LDL-COL e Apo B100 em ambos os sexos, os quais continuam na vida adulta até os 55 anos, com exceção de TAG. Na mulher sem terapia de reposição hormonal, após 55 anos ocorrem aumentos de LDL-COL, Apo B100. A trigliceridemia aumenta com a idade nas mulheres e mantêm-se estável no homem (BROWN *et al.*, 1993).

A idade está significativa e positivamente correlacionada com o aumento da resposta trigliceridêmica pós-alimentar em sujeitos de mais idade quando comparados aos mais jovens (COHN *et al.*, 1988).

No período de jejum, MILLAR *et al.* (1995) mostraram uma associação positiva da idade com a elevada produção e concentração de VLDL plasmática e de aumento do tempo de residência de partículas de LDL. Tais alterações podem ser derivadas das modificações da composição corporal conforme a idade (RYU, *et al.*, 1994), nas quais o aumento do tecido adiposo libera para a circulação maiores quantidades de AGL proporcionando maior síntese de TAG no fígado e resultando em maior produção de VLDL. Este processo leva a um controle regulatório dificultando a conversão de IDL para LDL com diminuição da atividade dos receptores de LDL hepáticos.

Peso corporal

Uma relação linear é observada entre IMC e TAG (DENKE *et al.*, 1993). Recentemente, foi demonstrado que sujeitos com elevado depósito de gordura visceral apresentam valores aumentados no plasma de insulina de jejum, VLDL-COL, TAG, VLDL-TAG, LDL-TAG, Apo B, VLDL-Apo B, relação COL/HDL-COL, LDL/HDL e Apo B/Apo AI, e diminuição de HDL-COL, HDL-COL2 e relação LDL/Apo B de LDL (WELTMAN *et al.*, 2003).

A gordura intra-abdominal em sujeitos de meia idade correlaciona-se negativamente com concentrações de HDL-COL e positivamente com idade, sexo masculino, IMC, dieta rica em gordura, TAG basal e pico da resposta de TAG e insulina (RYU *et al.*, 1994). Por outro lado, JANSSEN *et al.* (2002) demonstraram que o IMC e circunferência de cintura contribuem independentemente para prognosticar gordura corporal total, abdominal e visceral e deve ser obtido como mais uma variável de risco.

Tipo da dieta e consumo de álcool

Estudos em humanos com diferentes tipos de dietas compostas de variados AGL mostram significativas influências sobre a síntese, secreção, composição e tamanho das partículas intestinais de lipoproteínas ricas em TAG. Os tipos de dieta oferecidos podem ser identificados como um fator limitante da resposta pós-alimentar.

Comparando-se uma dieta rica em gordura (40% da energia total) a uma dieta padronizada pelo *National Cholesterol Education Program* (NCEP) fase II (COL dietético < 200mg, 55% de energia total da dieta provindo dos carboidratos, 15% das proteínas e menos que 7% de lipídeos saturados) ingeridas no período de um mês por sujeitos normolipidêmicos que se submeteram a um teste de tolerância oral à gordura, foi constatado que não há diferenças na trigliceridemia de jejum entre as duas dietas, mas na resposta pós-alimentar, cuja trigliceridemia foi menor com a dieta NCEP que com a dieta rica em gordura (MILLER *et al.*, 1998).

THOMSEN *et al.* (1999) demonstraram que dietas ricas em MUFA (óleo de oliva) induzem a concentrações de TAG plasmático pós-alimentares menores quando comparados com ingestão de SAT (manteiga). Entretanto, outros autores obtiveram resultados diferentes, com menor lipemia pós-alimentar para dietas mistas com gorduras saturadas (manteiga) e maiores para dietas com MUFA (óleo de oliva) e PUFA (óleo de girassol) (MEKKI *et al.*, 2002).

Utilizando diferentes tipos de dietas, THOLSTRUP *et al.* (2001) observaram que a composição do AGL (comprimento da cadeia e grau de saturação) parece afetar a extensão e duração da lipemia, e também indiretamente a produção de VLDL. Dietas ricas em AG insaturados aumentam as concentrações de Apo AIV em homens e mulheres quando comparados a dietas ricas em SAT. Sugere-se que a expressão e síntese aumentada de Apo AIV pode ser decorrente pelo efeito direto das gorduras insaturadas sobre as células intestinais (KRATZ *et al.*, 2003).

O álcool gera um aumento na lipemia pós-alimentar em sujeitos sadios independentemente do nível de treinamento físico do indivíduo ou do tipo de alimentação que é oferecida (SUTER *et al.*, 2001; TASKINEN *et al.*, 1987). O efeito do álcool na

lipemia pós-alimentar pode estar sendo ajustado por diversos fatores, como pela supressão da oxidação lipídica (SUTER *et al.*, 1992) e uma maior disponibilidade de lipídeos que competem pela LPL. O efeito agudo do álcool pode levar à supressão da atividade da LPL extra-hepática, diminuindo assim a depuração do TAG sérico (SCHNEIDER *et al.*, 1985).

Recentemente foi proposto que o consumo de álcool moderado pode ser um fator protetor contra a DAC, por ocasionar um aumento no fluxo de LpRTAG pós-prandiais e a remoção hepática das LpRTAG pós-alimentar após remodelação das lipoproteínas pela ação da LCAT e CETP, favorecendo assim o transporte reverso de colesterol em humanos (CHUNG *et al.*, 2003).

Exercício físico

Vários estudos relacionando tipos de treinamentos, dietas e diferenças entre sexos na lipemia pós-alimentar mostram uma diminuição do efeito da dieta nos lipídeos sanguíneos circulantes com o exercício (GILL e HARDMAN, 2000; HARDMAN *et al.*, 1998; HERD *et al.*, 2000; PETITT *et al.*, 2003). Numa metanálise envolvendo 29 estudos sobre o efeito do exercício prévio a uma dieta rica em gordura, PETTIT e CURETON (2003) observaram que a redução dos TAG no período pós-alimentar não sofria influência do sexo, idade, tipo de dieta ingerida, intensidade e duração do exercício, ou hora do exercício na resposta pós-alimentar. Somente uma variação negativa e significativa foi observada quanto ao efeito do exercício sobre a lipemia em mulheres exercitadas dentro de 24 h da ingestão da dieta e para exercício prévio com mais de 24 h da ingestão da dieta.

No *ATTICA Study*, um estudo populacional realizado na Grécia para avaliar o estado nutricional de 1376 homens e 1396 mulheres saudáveis divididos pela intensidade de atividade física diária que praticavam, foi demonstrado que as mulheres eram fisicamente menos ativas e apresentavam maiores concentrações de HDL-COL e Apo AI do que os homens (SKOUMAS *et al.*, 2003).

Em mulheres pós-menopausadas que praticavam exercício físico, GILL e HARDMAN (2000) verificaram menores concentrações de AG no período de jejum e pós-alimentar e uma redução de 20% da lipemia pós-alimentar quando comparado ao grupo

controle. Entretanto, a lipemia pós-alimentar pode ser atenuada após 1h de exercício físico de intensidade moderada, e esse efeito não se deve à alteração da atividade LPL (KATSANOS *et al.*, 2004).

Drogas e Patologias

Drogas como estatinas e fibratos são potentes inibidores da lipemia pós-alimentar, reduzindo assim o risco de DAC (WILMINK *et al.*, 2001; KARPE, 2002). As estatinas levam a uma modesta diminuição do TAG plasmático e tem como ação regular os receptores de LDL que promovem a depleção do COL intracelular por inibição da enzima HMG-CoA redutase. Estudos com estatinas demonstraram que o número aumentado de receptores de LDL aumenta a remoção das lipoproteínas ricas em TAG remanescentes no estado pós-alimentar. Também tem sido demonstrada uma inibição da síntese de VLDL (KARPE, 2002; SPOSITO *et al.*, 2003).

A principal atuação dos fibratos no metabolismo de lipídeos é sobre as concentrações séricas de TAG, reduzidas pela inativação do receptor nuclear PPAR (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor*) alfa, aumentando tanto a atividade de LPL quanto a oxidação dos AGL no fígado. A ação do fibrato em inibir PPAR alfa é ainda maior no estado pós-alimentar (KARPE, 2002; SPOSITO *et al.*, 2001).

Os estrogênios proporcionam efeitos favoráveis sobre a lipemia pós-alimentar. A concentração pós-alimentar de remanescentes de QM em mulheres normolipidêmicas é um fator de alto risco para a doença aterosclerótica coronariana. A terapia de reposição hormonal com 17 beta-estradiol promove um aumento na depuração de QMrem em 41% e atenua a redução pós-alimentar do HDL-COL em 66%, o que pode gerar, em parte, uma maior proteção cardiovascular (WESTERVELD, 1998).

O benefício dos hormônios sexuais femininos no perfil lipídico de jejum e pós-alimentar, com a redução das concentrações de LDL-COL e aumento da depuração dos QMrem também foi confirmado em mulheres pós-menopausadas com terapia de reposição hormonal por três meses (WEINTRAUB *et al.*, 1999).

Dislipidemias como dislipobetaipoproteinemia tipo III, hipercolesterolemia ou hiperlipidemia familiar; síndrome plurimetabólica, obesidade e diabetes melito ou resistência à insulina estão relacionadas diretamente com o prejuízo no metabolismo pós-alimentar pela menor remoção das partículas ricas em TAG e risco prematuro no desenvolvimento de lesões ateroscleróticas (ABBASI *et al.*, 1999; CABEZAS *et al.*, 1994; MAMO *et al.*, 1998).

Os fatores de risco de DAC na obesidade estão associados com diversos distúrbios metabólicos, como hipertensão arterial, insulino resistência e dislipidemias, os quais apresentam redução de HDL-COL e aumento do número de LDL pequenas e densas e das concentrações de TAG (REAVEN e CHEN, 1988; DESPRÉS *et al.*, 1996; DESPRÉS, 2001), relacionando a obesidade com o aumento da hipertrigliceridemia pós-alimentar (LEWIS *et al.*, 1990).

Em sujeitos obesos, foi demonstrado que uma moderada perda de peso é positiva para o aumento da sensibilidade insulínica e a ligação com o receptor LDL em células mononucleadas, decorrente da presença diminuída de QM circulantes nos períodos de jejum e pós-alimentar (JAMES *et al.*, 2003).

Num estudo onde se determinou a trigliceridemia diária de diabéticos (tipo 2), de obesos não-diabéticos e de normais (magros), foi demonstrado que a trigliceridemia estava similarmente aumentada nos 2 primeiros grupos quando comparado ao terceiro, e que o TAG de jejum e a obesidade central são determinantes da trigliceridemia independentemente do tipo de diabetes (VAN WIJK *et al.*, 2003).

Em estudos metabólicos, os diabéticos do tipo 2 têm sido caracterizados por uma elevação das concentrações séricas de TAG e diminuição de HDL-COL no estado de jejum (ERKELENS, 2001; MEIGS *et al.*, 1997; REAVEN e CHEN, 1988), e por uma hiperlipemia pós-alimentar quando comparado a sujeitos saudáveis (DE MAN *et al.*, 1996).

Em portadores de resistência insulínica, quando comparados com sujeitos normais com similar IMC, ocorre concentrações séricas duas vezes maiores de TAG e COL de RLP no período de jejum e pós-alimentar. Além disso, em todos os sujeitos foi

verificada uma correlação positiva entre as concentrações de HOMA-R e a resposta pós-alimentar do COL de RLP (FUNADA *et al.*, 2004). MASUMI *et al.* (2000) mostrou que a relação entre hiperinsulinemia e resposta de RLP em diabéticos do tipo 2 após dieta rica em gordura é significativamente maior nos hiperinsulinêmicos comparados com os normais.

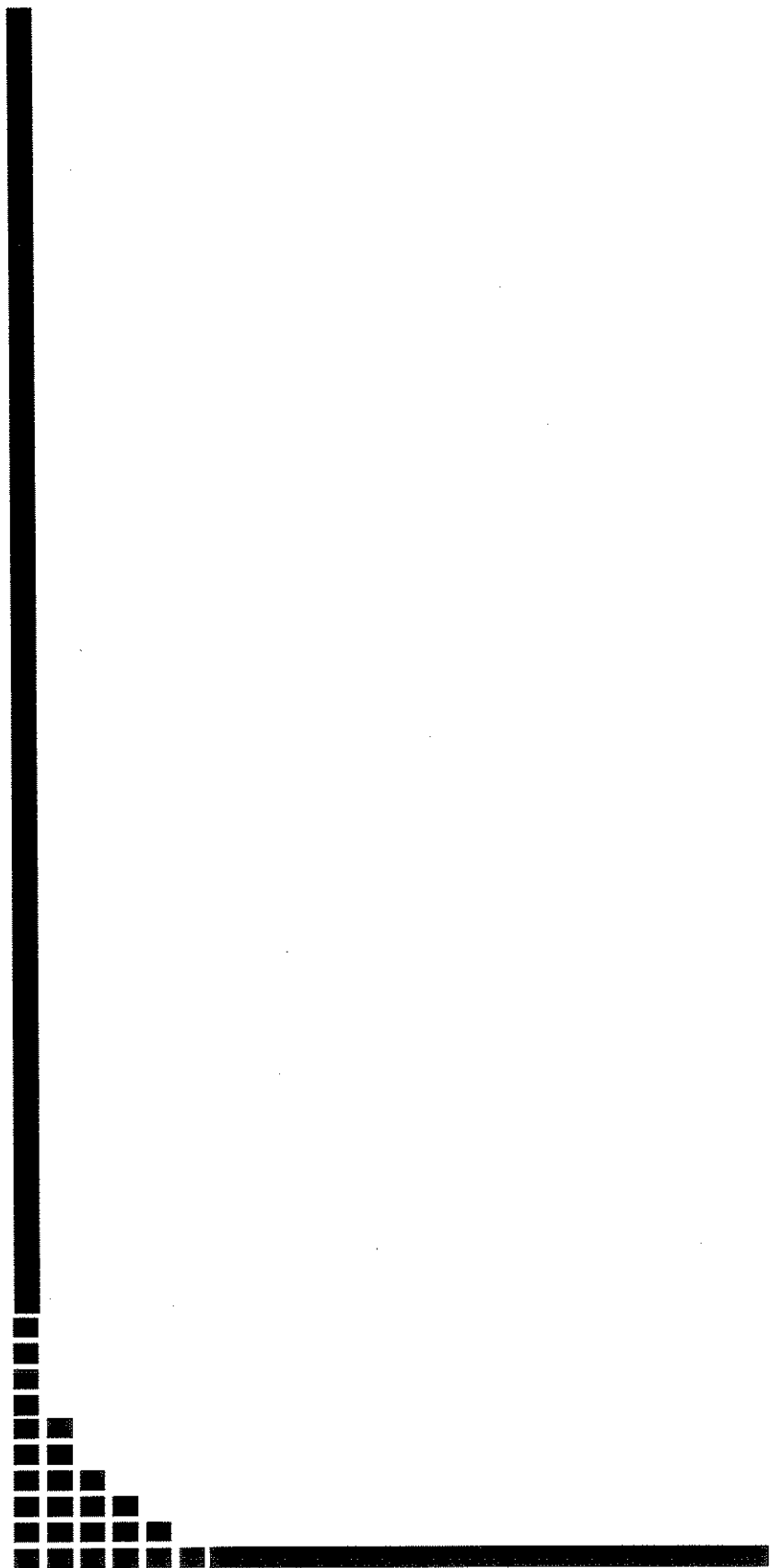
Na resistência insulínica há um aumento do fluxo de AGL para o fígado devido à ativação da lipase hormônio sensível do tecido adiposo (SWISLOCKI *et al.*, 1987). Esta grande quantidade de substrato no fígado leva a uma síntese exagerada de partículas de VLDL ricas em TAG que, ao entrarem na circulação, competem com o TAG dietético por algum mecanismo de depuração promovendo um hiperlipemia pós-alimentar exagerada e prolongada (LEWIS, 1995).



JUSTIFICATIVA

A aterosclerose é a principal causa de morbi-mortalidade em nosso país.

A compreensão ampla dos processos que ocorrem no organismo durante o período pós-alimentar justifica-se como de extrema relevância para a saúde humana, pois neste período vários compostos com caráter pró-aterogênico podem ser mais ou menos produzidos e aumentar sua concentração no plasma. Além disso, porque se trata de um estado fisiológico no qual o indivíduo permanece a maior parte do tempo no ciclo de 24 horas.



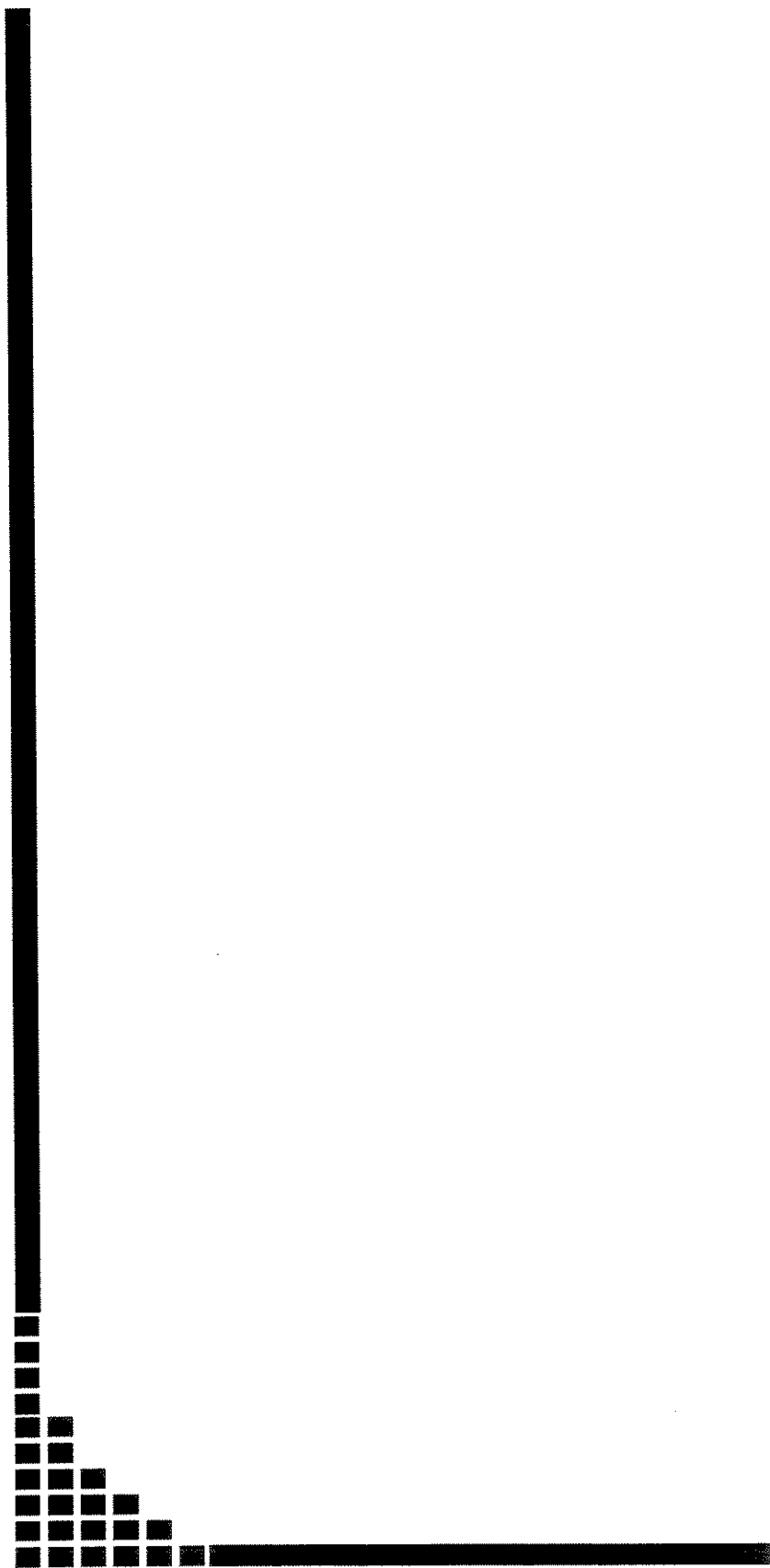
OBJETIVOS ESPECÍFICOS

TRABALHO CIENTÍFICO 1

Descrever e quantificar as respostas pós-alimentares de triacilgliceróis, após uma refeição rica em gordura, em indivíduos adultos, correlacionando-as a marcadores clínico-laboratoriais da doença aterosclerótica, espessura da camada íntima média das artérias carótidas e anticorpos anti-LDL oxidada, e marcadores metabólicos, proteína de transferência de colesterol-éster, lipases, insulina e ácidos graxos livres.

TRABALHO CIENTÍFICO 2

1. Quantificar as diferenças entre os sexos nas respostas pós-alimentares de lipídeos e lipoproteínas, após uma refeição rica em gordura, em indivíduos adultos.
2. Associar as diferenças entre os sexos a fatores bioquímicos séricos, da proteína de transferência de colesterol-éster, proteína de transferência de fosfolípidos, lipases, insulina, ácidos graxos livres, fosfolípidos, ésteres de colesterol, colesterol livre e lipoproteína (a); fatores antropométricos e a marcadores clínico-laboratoriais da doença aterosclerótica, espessura da camada íntima média das artérias carótidas e anticorpos anti-LDL oxidada.



***MATERIAIS E
MÉTODOS***

CASUÍSTICA

Foram selecionados 60 sujeitos entre 100 convocados, oriundos de diversos setores da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e da região urbana da cidade de Campinas, estado de São Paulo, com idades entre 18 e 45 anos. Estes 31 homens (H) e 29 mulheres (M), foram examinados clinicamente através de métodos convencionais de peso, altura, circunferência de cintura e pressão arterial e pareados quanto ao gênero, IMC, circunferência de cintura, pressão arterial, dieta e prática de atividade física. Todos os sujeitos tiveram sua pressão arterial medida indiretamente através da artéria braquial mantendo iguais procedimentos de posição e tempo determinados. As concentrações de lipídeos e de lipoproteínas plasmáticas apresentavam-se dentro dos parâmetros recomendados pelo CONSENSO BRASILEIRO DE DISLIPIDEMIAS (2001) para sujeitos sem fatores de risco para DAC (colesterol $\leq$ 240 mg/dL, triacilgliceróis $\leq$ 150 mg/dL e LDL-COL $\leq$ 130 mg/dL).

A triagem clínico-laboratorial dos convocados ocorreu durante uma visita ao Hospital das Clínicas (HC) da UNICAMP. Utilizou-se nesta fase as seguintes dosagens laboratoriais no plasma ou soro, após jejum de 12 horas: glicose, hormônio tireo-estimulante (TSH), tiroxina livre (T4L), aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), gama glutamiltransferase (GGT), uréia e creatinina. Foram excluídos os sujeitos com IMC fora dos limites entre 18 e 26 kg/m², os tabagistas, etilistas ou usuários de qualquer tipo de medicamento que pudesse interferir no metabolismo de lipídeos e também os portadores de doenças endócrinas, neurológicas, hepáticas e renais.

Todos os exames clínicos, os testes e as coletas de sangue foram realizados nas dependências do ambulatório de Dislipidemias do Hospital das Clínicas da UNICAMP, no Setor de Coleta da Divisão de Patologia Clínica e em salas de procedimentos experimentais do HC.

Não houve intercorrências clínicas ou desistências das adesões pelos participantes durante todos os procedimentos realizados.

Os selecionados foram convocados para outras duas visitas ao HC e uma quarta visita à Clínica de Ultrasonografia Imagem Diagnóstica, em Campinas, para a completa realização do protocolo conforme o figura 1.

Durante o exame clínico, os sujeitos responderam a um questionário individual sobre seus antecedentes de saúde pessoais e familiares (anexo 1). Após o esclarecimento dos objetivos e transtornos dos procedimentos inerentes ao estudo, os selecionados assinaram o termo de consentimento livre e de esclarecimento (anexo 2), aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médica da UNICAMP (protocolo nº 238/2003).

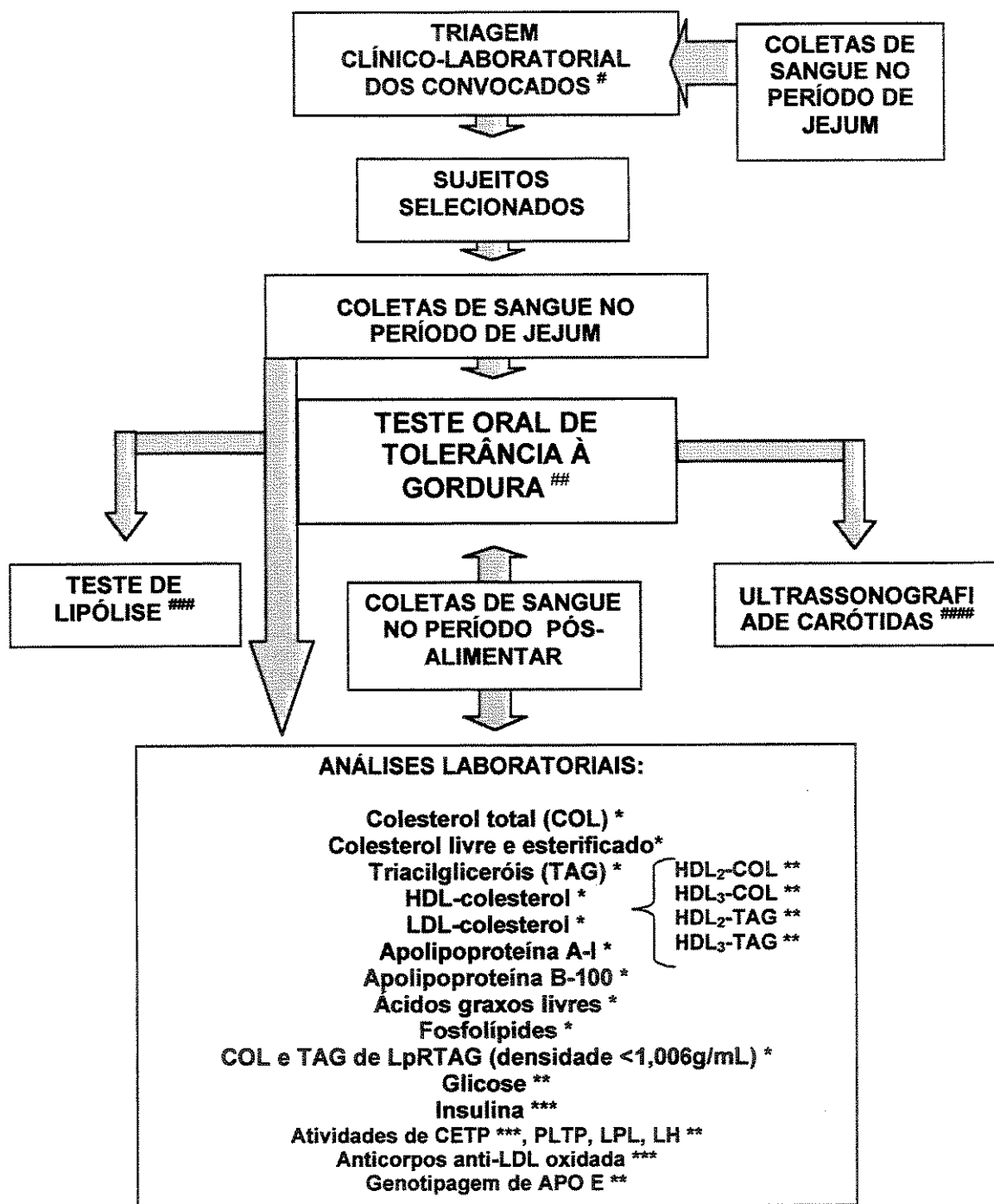


Figura 1 - Protocolo experimental

TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA À GORDURA

O teste oral de tolerância à gordura foi iniciado por punção venosa após 12 horas de jejum, seguido da ingestão de uma refeição líquida preparada com leite em pó NAN[®] isento de lactose (Nestlé, São Paulo, SP) e água na proporção de 1:2 totalizando em média um volume de 600 mL de *milkshake*, de sabor escolhido pelo voluntário (natural, baunilha ou morango).

A composição básica do leite por 100g era: 12,6 g de proteínas; 56,8 g de carboidratos; 25 g de gordura (sendo 4 g de ácido linoleico e 510 mg de ácido linolênico) e 2,6 g de sais minerais.

A cada voluntário foram administrados 40 g de gordura/m² de superfície corporal. A refeição foi ingerida em cerca de 10-15 minutos. Coletas seriadas de sangue foram efetuadas na 2^a, 4^a, 6^a e 8^a horas após a refeição, permanecendo os participantes em repouso relativo durante todo o período do teste.

O **Quadro 2** abaixo indica o valor calórico e a composição em nutrientes da refeição administrada aos participantes comparados aos de uma dieta padrão ocidental para homens e mulheres. Observa-se que a refeição continha, em relação às recomendações diárias para cada sexo, cerca da metade das calorias, e no mínimo a metade em carboidratos e lipídeos por dia.

Quadro 2 – Composição calórica e química da refeição administrada e da dieta ocidental recomendada para homens ou mulheres adultos de acordo com o *Recommendation Dietary Allowances (RDA)*, 1989.

Valor calórico total e massa de nutrientes	Refeição Mulher * (266 g leite)	Dieta ocidental Mulher * (por dia)	Refeição Homem ** (296 g leite)	Dieta ocidental Homem** (por dia)
VALOR CALÓRICO TOTAL (Kcal)	1335	2200	1489	2900
CARBOIDRATOS (g)	151	248-275	168	326-363
PROTEÍNAS (g)	33	55-138	37	73-181
LIPÍDEOS (g)	66	73-98	74	97-129
AG MONOINSATURADOS (g)	23	30-37	26	39-49
AG POLINSATURADOS (g)	13	15-21	14	20-27
AG SATURADOS (g)	26	29-38	29	38-50

* Mulher adulta com 20 anos, 60 Kg peso corporal, 1,65 m de altura, 1,66 m² superfície corporal;

**Homem adulto com 20 anos, 70 Kg peso corporal, 1,75 m de altura, 1,85 m² superfície corporal.

AG = ácidos graxos.

TESTE DE LIPÓLISE

Numa terceira visita, com intervalo entre 2 e 9 dias após o teste oral de tolerância à gordura, os participantes foram submetidos a uma coleta de sangue após jejum de 12 horas, e em seguida administrou-se endovenosamente heparina (Liquemine®, Roche, São Paulo, SP) na dose de 100 UI/kg de peso corporal. Após 15 minutos, o sangue foi colhido para a determinação das atividades das enzimas lipoproteína lipase e lipase hepática no plasma.

ULTRASONOGRAFIA *DOPPLER* DAS ARTÉRIAS CARÓTIDAS

Os sujeitos foram encaminhados à ultrasonografia *doppler* das carótidas no máximo 15 dias após a realização do teste oral de tolerância à gordura. Para a medida do espessamento da EIM das artérias carótidas, os sujeitos foram examinados em decúbito dorsal com a cabeça elevada em cerca de 20 graus e com rotação de cerca de 45 graus. Empregou-se a ultrasonografia *doppler* realizada em aparelhos ATL HDI 1500 e 3500 Ultrasound System (Advanced Technology Laboratories Ultrasound, Bothell, EUA), e Logic 400 (General Electric Healthcare, Milwaukee, EUA), com transdutores lineares de 6-9 MHz. O protocolo, em todos os casos, foi realizado pelo mesmo médico ultrasonografista e consistiu de várias medidas longitudinais de segmentos das artérias carótidas comuns direita e esquerda, de acordo com a literatura (SIMONS *et al.*, 1999; CARALLO *et al.*, 1999; ESPELAND *et al.*, 1999). Os resultados foram expressos como média aritmética das espessuras em milímetros das carótidas direita e esquerda.

ANÁLISES BIOQUÍMICAS

As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Lípidos do Núcleo de Medicina Experimental, no Serviço de Bioquímica do HC-UNICAMP e no Laboratório de Lípidos da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

As amostras de plasma, quando não foram processadas imediatamente após a coleta, foram armazenadas à -80°C.

As dosagens de glicose, AST, ALT, FA, GGT, uréia e creatinina foram realizadas por métodos enzimático-colorimétricos em equipamento de automação Boehringer Mannheim Hitachi 917/Roche, e os hormônios TSH e T4L de jejum por método eletroquimioluminescente em Elecsys 2010 da Roche (Basiléia, Suíça), utilizando reagentes comerciais da Roche (Mainheinn, Alemanha). A insulina foi dosada por método imunométrico em equipamento Immulite/DPC/MedLAB (Los Angeles, EUA).

As lipoproteínas ricas em triacilgliceróis, com densidade menor que 1,006 g/mL, foram isoladas por ultracentrifugação seqüencial (HAVEL *et al.*, 1955) a 40.000 rpm por 16h e a 4°C em ultracentrífuga modelo L5-75B da Beckman (Beckman Instruments, Palo Alto, EUA), utilizando os rotores 75Ti ou 90Ti.

As dosagens de COL e de TG no soro, nas subfrações de lipoproteínas e nas LpTAG foram realizadas por método enzimático-colorimétricos em sistema de automação Boehringer Mannheim Hitachi 917-Roche (Basiléia, Suíça) utilizando reagentes comerciais da Roche (Mainheinn, Alemanha). O colesterol das frações de LDL (RIFAI *et al.*, 1992) e HDL (NAUCK *et al.*, 1997) foram obtidos por método enzimático homogêneo direto e de VLDL foi estimado como sendo 1/5 da trigliceridemia em todos os tempos (FRIEDEWALD *et al.*, 1972).

As sub-frações de HDL (HDL₂ e HDL₃) foram obtidas por microultracentrifugação seqüencial do sobrenadante em microultracentrífuga modelo *Airfuge/75B* da Beckman (Beckman Instruments, Palo Alto, EUA), após a precipitação de lipoproteínas contendo apolipoproteína B100 com sulfato de dextrana.

As apolipoproteínas (Apo AI e Apo B100), e a lipoproteína (a) foram analisadas por nefelometria através de reação imunoquímica em aparelho BNII/Marburg (Alemanha), utilizando reagentes Dade-Behring®.

Os ácidos graxos livres, os fosfolípidos e colesterol livre foram analisados por métodos enzimático-colorimétricos utilizando reagentes comerciais da Waco (Osaka, Japão). Os ésteres de colesterol foram obtidos pela diferença entre o colesterol total e o colesterol livre.

MEDIDA DAS ATIVIDADES DE LIPOPROTEÍNA LIPASE E LIPASE HEPÁTICA

As atividades da lipoproteína lipase e da lipase hepática foram obtidas por método radiométrico através da medida da liberação de ácidos graxos livres resultantes da hidrólise de um substrato artificial de trioleína triciada (EHNHOLM e KUUSI, 1986). O

substrato foi preparado pela adição de trioleína fria [(1, 2, 3-Tris [cis-9-octadecenoleo]glicerol)] e trioleína radioativa ([9,10³H] (N)-trioleína, atividade específica de 26,8 Ci/mmol, New England Nuclear, Boston, EUA) estabilizadas por uma solução de goma arábica a 5% (Sigma, St Louis, MO, EUA). A mistura foi submetida a sonicações alternadas, 8 vezes de 30 segundos em sonicador Branson Cell Disruptor (Branson Sonifier modelo 450, Danbury, EUA), com ponta de titânio de 1 cm de diâmetro. A albumina bovina sérica livre de ácidos graxos 10% foi acrescentada após a sonicação para quelar os ácidos graxos livres, e a LPL foi inibida pela adição de 2M NaCl.

A reação foi incubada por 60 minutos à 37° C e interrompida com a adição de uma solução de metanol:clorofórmio:heptano (1,41:1,25:1; V/V/V), seguida de uma mistura de bicarbonato de potássio/ácido bórico (pH=10,5). A radioatividade foi determinada num contador de cintilação líquida modelo LS-5000/ 75B (Beckman, Beckman Instruments, Palo Alto, EUA). A atividade de LPL foi calculada pela diferença entre as atividades lipase total e LH e expressas como nmol de ácidos graxos liberados por hora, por mL de plasma.

MEDIDA DE ATIVIDADE DA PROTEÍNA DE TRANSFERÊNCIA DE COLESTERIL-ÉSTER

A atividade da CETP foi mensurada através da medida de transferência de CE de HDL marcada radioativamente para as lipoproteínas contendo apoB, segundo o método radiométrico exógeno (LAGROST, 1998). As partículas aceptoras de CE (LDL e VLDL, $d < 1,063$ g/mL) e as doadoras de CE (HDL, $d > 1,063$ g/mL) foram obtidas por ultracentrifugação seqüencial a partir de um *pool* de soro normolipidêmico em ultracentrífugas modelo L80/75B da Beckman (Beckman Instruments, Palo Alto, EUA), utilizando um rotor 50Ti. As HDL foram isotopicamente marcadas com [4-¹⁴C]-colesteril oleate (New ENgland Nuclear, EUA) e purificadas por ultracentrifugação em gradiente descontínuo utilizando um rotor SW40 da Beckman.

Os ensaios de transferência de CE foram realizados em duplicata pela adição do doador marcado (^{14}C -HDL diluída para 40 mg/dL de colesterol), do acceptor (VLDL+LDL diluídas para 200 mg/dL de colesterol), de tampão Tris pH 7,4 (NaCl 150 mM, Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM) e de soro como fonte de CETP. A mistura foi homogeneizada, incubada por 4 horas à 37°C, resfriada e precipitada com uma solução 1M de sulfato de dextrana e cloreto de magnésio (1:1). Após centrifugação por 15 minutos a 3000 rpm (4°C), o sobrenadante foi coletado para a contagem de radioatividade num contador de cintilação líquida Beckman modelo LS-5000 (Beckman Instruments, Palo Alto, EUA),

A porcentagem de transferência de colesterol-éster foi calculada pela equação:

$$\% \text{ Transferência de CE} = [1 - (\text{dpm amostra} / \text{dpm branco}) \times 100]$$

MEDIDA DE ATIVIDADE DA PROTEÍNA DE TRANSFERÊNCIA DE FOSFOLÍPIDES

A atividade da PLTP foi mensurada através da medida de transferência de [^{14}C] fosfatidilcolina entre lipossomas e as lipoproteínas de alta densidade (DAMEN *et al.*, 1982).

Para preparar 1 mL de lipossomas radioativamente marcados, secou-se num frasco limpo (*vial* de cintilação) contendo 125 μmol de fosfatidilcolina e fosfatidilserina, ^{14}C -fosfatidilcolina e hidroxitolueno butilado. A mistura lipídica foi sonicada com tampão contendo NaCl (150 mM), tris-HCl (10 mM) e EDTA (1mM), pH 7,4, 3 vezes durante 5 minutos, em gelo. As amostras de plasma como fonte de PLTP (10 μL) foram incubadas por 1 hora a 37°C com o lipossoma marcado radioativamente (125 nmol de FL), HDL (250 μg de proteína) e tampão Tris, pH 7,4 (NaCl 150 mM, Tris-HCl 10 mM e EDTA 1 mM), para um volume final de 400 μL .

Os lipossomas foram precipitados com solução precipitante (500 mM de NaCl, 125 mM de MgCl_2 e 140 U heparina/tubo), e o sobrenadante coletado para determinar a medida da radioatividade.

A percentagem de transferência de FL foi determinada pela radioatividade no sobrenadante (HDL) em relação ao branco, segundo a equação:

$$\% \text{ FL radioativo} = (\text{dpm FL amostra} - \text{branco} / \text{dpm FL total} - \text{branco}) \times 100$$

EXTRAÇÃO DE DNA

A extração de DNA genômico de leucócitos foi realizada com sangue periférico segundo o método de SALAZAR *et al.* (2001).

O sangue total foi coletado em tubos contendo EDTA (10%, 0,1 mL). Em um tubo de microcentrífuga estéril, a 300 uL de sangue total foram adicionados igual volume de Iodeto de Sódio 6M, o que promoveu a lise celular. A mistura foi homogeneizada em agitador de tubos por 20 segundos. Ao homogenato resultante foram acrescentados mistura recém preparada de 600 uL de clorofórmio/álcool isoamílico (v/v, 24:1), para extração das proteínas e debris celulares. Homogeneizou-se em agitador de tubos por 20 segundos e centrifugou-se a 12.000 rpm (10700 x g) por 5 minutos, à temperatura ambiente. A seguir, removeu-se cuidadosamente a fase aquosa (superior) e transferiu-se para outro microtubo estéril. Adicionou-se 400 uL de isopropanol gelado e incubou-se por 3 minutos para a precipitação do DNA genômico. Centrifugou-se a 12.000 rpm (10700 x g) por 5 minutos, à temperatura ambiente e o sobrenadante foi descartado. O sedimento foi lavado com álcool isopropílico a 37% e centrifugado a temperatura ambiente, 12.000 rpm (10700 x g) por 5 minutos e o sobrenadante descartado. O precipitado de DNA após secar a temperatura ambiente foi ressuspendido em 100 uL de tampão TE pH 8,0 (Tris-HCl 10mM; EDTA 0,1mM;), incubado por 10 minutos a 56° C e armazenado a -20° C.

A quantificação e a análise do grau de pureza (relação de absorbância de 260/ 280 nm) dos extratos de DNA foram realizadas em espectrofotômetro após a diluição das amostras (1:50) em tampão TE. A integridade das moléculas de DNA foi verificada por eletroforese em gel de agarose a 1% em tampão TBE (Tris a 90 mM, ácido bórico a 90 mM e EDTA a 2 mM) e corado com brometo de etídeo (0,5 ug/mL). A separação eletroforética foi realizada a 100V por 45 minutos e a visualização das bandas de DNA em transiluminador sob a luz ultra-violeta.

GENOTIPAGEM DA APOLIPOPROTEÍNA E

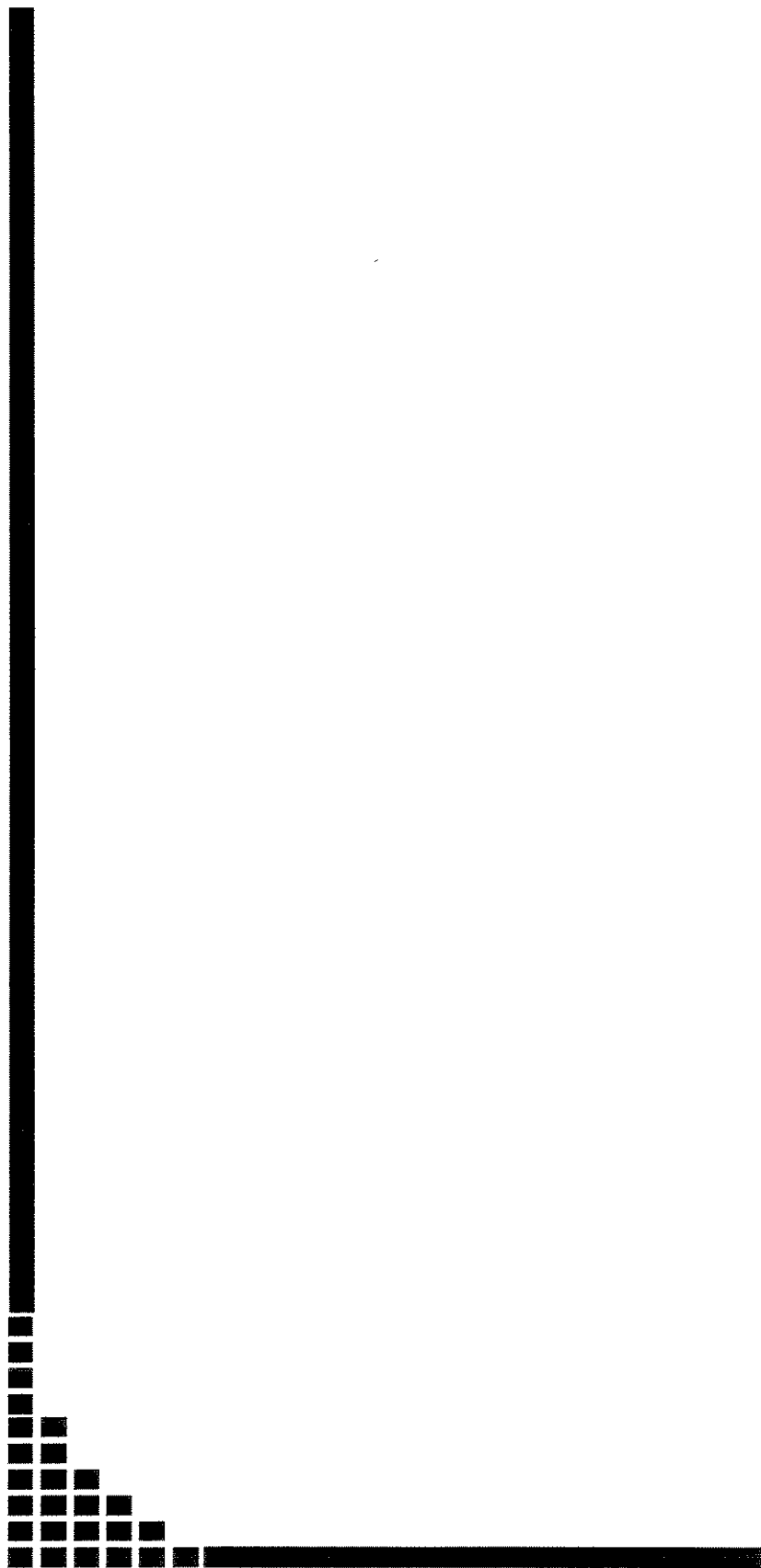
A amplificação dos 244 pares de base (pb) do fragmento localizado no exon 4 do gene da Apo E foi realizado num termociclador (PTC-100, MJ Research, Inc, EUA). Os amplímeros direto e reverso utilizados foram: 5'-TAA GCT TGG CAC GGC TGT CCA AGG A-3' e 5'-ACA GAA TTC GCC CCG GCC TGG TAC AC-3', conforme descrito por Emi e colaboradores (EMI *et al.*, 1988). A reação de amplificação realizada com 100 ng de DNA genômico, 150 μ M de cada DNTP (desoxinucleotídeos), tampão 10X PCR (25 mM tris-HCl, 2,5 mM MgCl₂, 50 mM KCl, pH 8,3), 10% DMSO (dimetilsulfóxido), 15 pmol de cada amplímero e 0,75U de Taq DNA polimerase para um volume final de 25 μ L. A reação de PCR foi iniciada com a desnaturação a 95°C por 5 minutos, seguidos de 30 ciclos de desnaturação a 95°C por 1 minuto, associação a 60°C por 1 min e extensão a 72°C por 2 min, e uma extensão final a 72°C por 5 minutos. O produto de PCR (10 μ L) foi digerido com 5U de enzima de restrição HhaI (Invitrogen, EUA) a 37°C por 3 horas em solução tampão contendo 50 mM Tris-HCl, pH 8,0; 10mM MgCl₂; 50 mM NaCl. O produto de digestão foi submetido à eletroforese em gel de agarose a 4% (50% agarose e 50% agarose 1000, Invitrogen, EUA) contendo brometo de etídio em tampão Tris-Borato-EDTA por 1h a 90V. Os fragmentos da digestão foram visualizados num sistema de documentação de gel Alpha Imager TM 1220 (Alpha Innotec Co, EUA) para a identificação das bandas correspondentes aos polimorfismos: homozigotos E2/2 (91 e 83 pb); E3/3 (91, 48, 35 pb) e E4/4 (72, 48, 35 pb); heterozigotos E2/3 (91, 83, 48, 35 pb), E2/4 (91, 83, 72, 48, 35 pb), E3/4 (91,72, 48, 35 pb). (HIXSON e VERNIER, 1990).

MEDIDA DOS ANTICORPOS ANTI-LDL OXIDADA

Os anticorpos anti-LDL oxidada (anti-LDLox) foram determinados pelo método de ELISA (GIDLUND *et al.*, 1996). Amostras de soro foram incubadas a 4°C por 18 horas em microplacas contendo LDL previamente oxidada *in vitro*. Em seguida, estas microplacas foram lavadas com tampão PBS e adicionou-se leite desnatado (5%) (Molico®, Nestlé, São Paulo) por 2 horas, à temperatura ambiente. As microplacas foram lavadas novamente, e adicionou-se o tampão PBS aos soros diluídos (1:750) para uma

incubação por mais 4 horas. As microplacas foram lavadas com 0,05% Tween-20 (em PBS) e incubadas com anticorpo Goat anti-IgG (anticorpo conjugado com peroxidase anti-imunoglobulina G humana) na concentração 1:15000 à temperatura ambiente por 1 hora com subsequente lavagem. Para a revelação, foi adicionada à placa uma mistura de tetrametilbenzidina em DMSO (6,5%), citrato de sódio (pH=5,5) e H₂O₂ 30% por 7 minutos. O desenvolvimento de cor foi bloqueado pela adição de 25 uL de ácido sulfúrico (10%) e a densidade óptica das amostras lida a 460 nm. A concentração do anticorpo anti-LDL oxidada, representada como percentagens das leituras relativas aos valores ranqueados dos grupos estudados, foi calculada de acordo com a equação abaixo:

$$\text{Anticorpo LDLoxidada} = (\text{DO amostra} - \text{branco} / \text{DO controle}) \times 100$$



*ANÁLISES
ESTATÍSTICAS*

As médias, os desvios e os erros padrões foram calculados por métodos convencionais. Uma série de variáveis não-paramétricas sofreu transformação logarítmica. Os resultados estão expressos como média $\pm$ DP (n) e foram considerados significativos os valores de $P \leq 0,05$.

A análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas foi utilizada na avaliação da resposta pós-alimentar, comparação entre os grupos dos parâmetros analisados e medidas de interações. As diferenças foram localizadas pelo teste de comparação múltipla de Tukey (para o sexo) e o teste de perfil de contraste (para a resposta). A análise de variância monofatorial com teste *post-hoc* de Duncan foi utilizada para comparações entre grupos. Pelo teste do qui-quadrado foram identificadas as diferenças entre variáveis não contínuas.

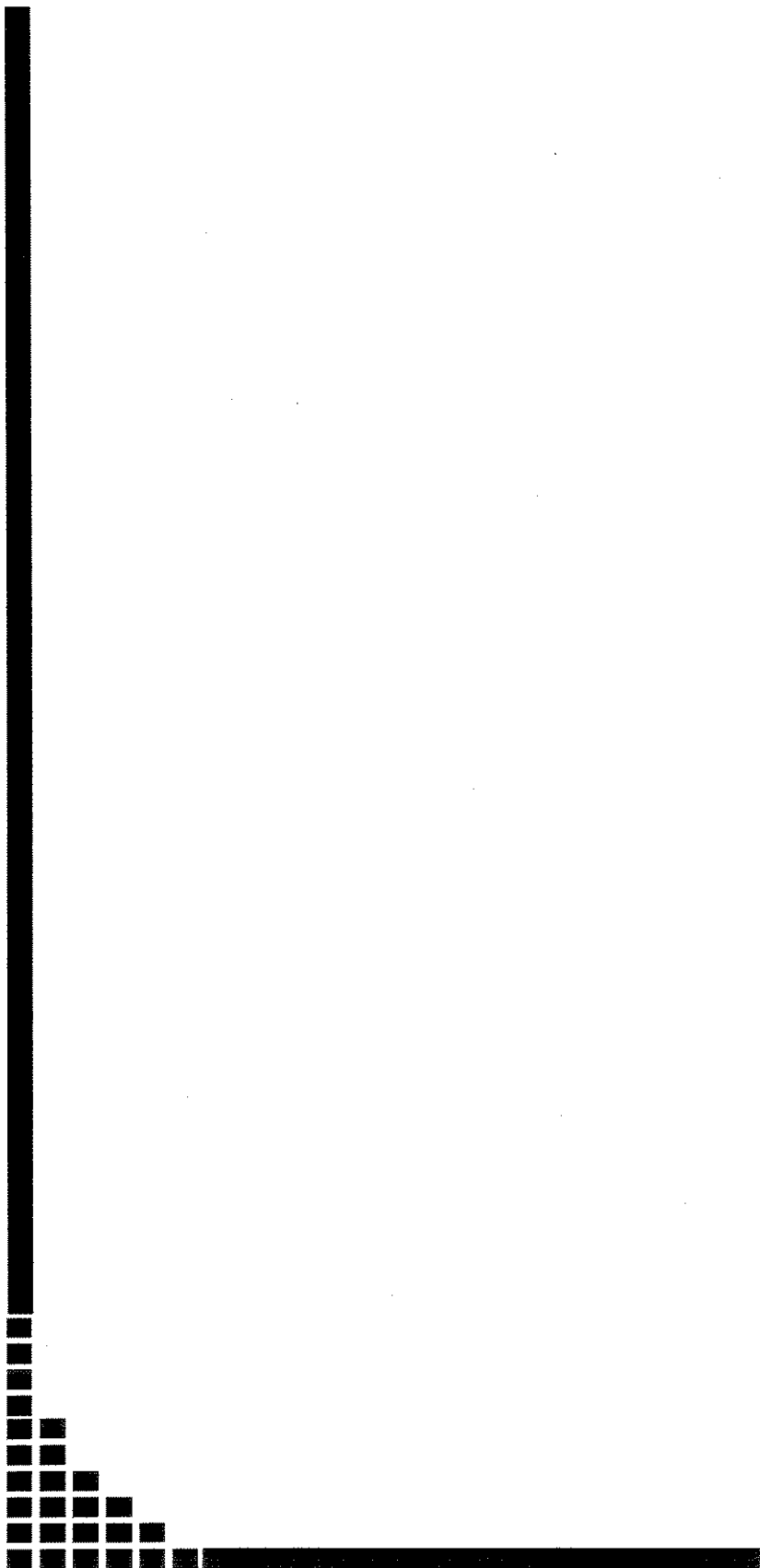
Para o resumo das curvas utilizou-se inicialmente a análise por inspeção visual. A área sob a curva (AUC) e a área incremental sob a curva (AIUC) foram obtidas pelo método trapezoidal (MATTHEWS, 1990).

As taxas fracionais de aquisição (TFA) foram mensuradas pelas inclinações ascendentes monofatoriais, e as taxas fracionais de remoção (TFR) obtidas das inclinações descendentes monofatoriais, utilizando-se a análise de regressão linear do coeficiente angular (MONTGOMERY, 1982).

As diferenças entre os sexos para as áreas e taxas fracionais foram analisadas através do teste *t* de Student ou do teste exato de Fisher (para valores menores que 5).

Os coeficientes de correlação (*r*) foram estimados por Pearson e Spearman. A análise de regressão linear multivariada foi realizada utilizando-se o critério de *stepwise* na seleção de variáveis independentes para os seguintes parâmetros resposta: AUC, AIUC, TFA e TFR nos dois sexos.

Todas as análises estatísticas foram realizadas nos programas SAS versão 8.01 (SAS Institute Inc, 1999-2000, Cary, EUA), SPSS versão 6.0 (SPSS Inc, 1989-1993, Chicago, EUA) e Microcal Origin versão 5.0 (Microcal Software, Inc., 1991-1997, Northampton, EUA).



RESULTADOS

TRABALHO CIENTÍFICO 1

DIFFERENT METABOLIC BEHAVIORS IN THE FASTING AND THE POSTALIMENTARY PERIODS CLARIFY THE ASSOCIATION OF LIPEMIA WITH CAROTID INTIMA-MEDIA THICKNESS AND AUTOANTIBODIES TO EPITOPES OF OXIDIZED LDL

Juliana Tentor¹, Lila Harada², Ruy Nakamura^{1,3}, Magnus Gidlund⁴, Lúcia Castilho¹; Eliana C de Faria¹

Departamento de Pathologia Clínica, NMCE, UNICAMP, Campinas, São Paulo - Brazil¹;

Laboratório of Lípides, FM – USP, São Paulo, São Paulo - Brazil²;

Laboratório de Imagem Diagnóstica, Campinas, São Paulo - Brazil³;

Laboratório de Imunofisiopatologia, ICB-USP e IMT-SP, São Paulo, Brazil⁴.

Correspondence:

Eliana C de Faria

Mailing address: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126 - Departamento de Pathologia Clínica, FCM - UNICAMP, Barão Geraldo. CEP:13084-971

Phone: 0055 19 37887064

FAX: 0055 19 37889434

E-mail: cotta@fcm.unicamp.br

Abstract

Background: A better understanding of the association of postalimentary lipemia with early and established atherosclerosis is needed in coronary heart disease prevention.

Objective: This work identified different metabolic behaviors to a standardized fat meal in early and late diet-induced triacylglycerol (TAG) responses, relating the latter to markers of atherosclerosis.

Design: Blood samples were collected before and after a liquid meal (40 g fat/m² body surface) at 0, 2, 4, 6 and 8 hours (h) for lipids, insulin, free fatty acids (FFA), cholesteryl ester transfer protein (CETP), lipases, autoantibodies to epitopes of oxidized LDL (anti-oxi LDL), apolipoprotein E genotypes and the determination of the carotid intima-media thickness (IMT).

Results: Sixty asymptomatic and normolipidemic adults were classified into early TAG responders to the test meal ($n=39$), late ($n=21$) and biphasic (among late responders, $n=10$). Reductions in HDL-cholesterol and insulin concentrations were observed in late and in biphasic responders in the TAG peak period and also in fast for HDL-chol as well as increases in free fatty acids in late responders in the TAG peak period. Postalimentary CETP increase was absent in the biphasic group. Only late responders presented positive correlations between the carotid IMT and the TAG areas under the curves (AUC), TAG 0-8h, anti-oxi LDL, cholesterol, LDL-cholesterol and body mass index; also anti-oxi LDL correlated positively with cholesterol, and negatively with cholesteryl ester transfer protein, hepatic lipase and systolic blood pressure.

Conclusions: The association of atherosclerosis biomarkers with late postalimentary lipemia could be due to a state of postalimentary insulin resistance and of impaired reverse cholesterol.

Keywords: Postalimentary lipemia, cholesteryl ester transfer protein, insulin, free fatty acids, autoantibodies to epitopes of oxidized LDL, carotid intima-media thickness

Introduction

Evidence from metanalysis of a number of clinical studies in a large number of patients has established an increased plasma concentration of triacylglycerol (TAG) as an independent risk factor for coronary heart disease (CHD) (1, 2). Elevated fasting serum triacylglycerol is a marker for atherogenic remnant lipoproteins, non-LDL apolipoprotein B-containing lipoproteins or for other lipid and non-lipid risk factors (3, 4). The finding of triacylglycerol-rich lipoproteins in human atheromata has provided substantial pathophysiologic evidence for their direct role in atherogenesis (5).

Postalimentary lipemia was first described as an atherogenic phenomenon by Zilversmit in 1979 (6). It has received considerable attention more recently, after the discovery that triacylglycerol-rich lipoproteins are atherogenic (7, 8).

In Western societies, people spend most of their days in the postalimentary state because they have sequential eating habits. The magnitude of lipemia and of TAG peaks, the number of peaks, the lag time to peak, the time from baseline values to initial response and the time to return to baseline values vary among individuals and are important components of the atherogenicity of the postalimentary state (9, 10). The few studies found in the literature have not explored the metabolic background involved in the lipemic responses.

Clinical studies have shown an independent relation between lipemia and early atherosclerosis as shown by the carotid IMT correlation with TAG at 6 and 7h (9) or at 1 to 4h (10). Moreover patients with established coronary atherosclerosis presented elevated triacylglycerol concentrations in the postalimentary period (11, 12, 13).

The ultrasonic carotid procedure can be used in the postalimentary period as an early atherosclerosis marker to assess sub-clinical stages of the disease and predict coronary atherosclerosis (14, 15, 16). Also autoantibodies to epitopes of oxidized LDL that monitor the degree of oxidative changes in LDL are related to atherosclerosis (17, 18).

The objective of the present study was to quantify the lipemic responses to a fat meal and to measure their relationships with different atherosclerosis markers. Besides that it was also to measure several plasma metabolic components in the fasting and postalimentary periods. To address this work we examined the postalimentary TAG responses of 60 normolipidemic asymptomatic adults.

Subjects And Methods

Experimental protocol:

Sixty volunteers, 48% (n=29) women (W) and 52% (n=31) men (M), aged from 18 to 45 years old, all in good clinical condition, without any established CHD or cardiovascular risk factors like dyslipidemia, according to the National Cholesterol Expert Panel recommendations (19), were selected for this study which was approved by the Ethics Committee of the Medical School of the University of Campinas in São Paulo.

First, after an overnight fast (hereafter called baseline or fasting period, FP) blood was drawn on ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA, 1 mg/ml). Then a lactose-free milkshake liquid meal containing fat (25%), dextromaltose (55%) and protein (14%) and providing 40 g fat/m² of body surface was given, over a period up to 10 min. Further blood samples were collected after 2, 4, 6 and 8 hours (h) (hereafter called postalimentary period). For cholesteryl ester transfer protein (CETP), insulin and autoantibodies to epitopes of anti-oxidized LDL (anti-oxi LDL) fasting and TAG peak period samples after the meal were used.

The participants came for a second visit to have fasting plasma collected for quantification of lipases, 15 minutes after an intravenous heparin injection (100U/kg body weight). They came for a third visit (up to 3 weeks after) for the carotid ultrasonographic examination.

Analytical methods:

Cholesterol (chol), TAG and glucose were determined using enzymatic colorimetric methods and plasma HDL cholesterol (HDL-chol) and LDL cholesterol (LDL-chol) were determined through homogeneous enzymatic colorimetric assays, all provided by Roche Diagnostics (Basel, Switzerland). Free fatty acids were measured by an enzymatic method (Waco, Osaka, Japan) and insulin by an immunometric assay (Immulite/DPC/Medlab, Los Angeles, USA).

Lipoprotein lipase (LPL) and hepatic lipase (HL) activities were measured (20) in post-heparin plasma samples, on the basis of fatty acid release, using a radiolabeled triolein emulsion as the substrate and NaCl (1M) as the LPL inhibitor, with results expressed as nmol FFA/mL/hour.

CETP activity was determined by an exogenous assay (21) that measures the transfer of radiolabeled cholesteryl ester (CE) between a normal donor pool of ^{14}C -HDL and an unlabeled acceptor mixture of VLDL plus LDL over 4h, using plasma as the CETP source and with results expressed as a percentage of cholesteryl ester transferred.

The inter-assay coefficients of variation were 11%, 15% and 12%, respectively, for CETP, LPL and HL.

DNA was obtained from peripheral blood samples by conventional methods. Restriction analysis of the PCR-amplified apolipoprotein E DNA fragments was performed as previously reported (22, 23).

The anti-oxi LDL was evaluated in all participants by ELISA after the samples were incubated with copper-oxidized LDL (24). The results are presented as percentages of the OD readings relative to the group ranked values.

The ultrasonic carotid procedures were performed by the same radiologist using an Advanced Technology Laboratories (Bothell, USA) ultrasound imager, with a 7-12MHz color probe. The carotid IMT was calculated as the mean of five measurements in the far wall from the left and right common carotid arteries according to a standardized method (25, 26). The individual results were expressed as an average of the left and right carotid intima-media thickness (IMT) in millimeters.

Statistical analyzes

The statistical analyses were performed using the SPSS statistical package (6.0, SPSS Inc., Chicago, USA). The areas under the curves (AUC) and areas under the incremental curves (AUIC) were measured by the trapezoidal rule. Average differences were determined by one-way ANOVA with *post hoc* Duncan and the Chi-Square tests and for responses to the fasting period the Wilcoxon test was used. The Spearman test correlated the variables. The tests were considered significant at the *P* value of 0.05 or less.

Results

By visual inspection of the individual TAG curves (not shown) and comparative statistical tests the participants were classified into three response phenotypes. The responders with the same characteristics were combined into two groups: the early responders and the late responders observing their average time to TAG peaks respectively at the 2nd to 4th and 6th to 8th h, time to initial response at 2 and 2 to 6 h; time back to baseline, 6 to 8 and more than 8 h. A biphasic (two peaks at 2 and 6h) response group was also observed in half of the late responders (17% of the total group) in contrast to the monophasic (one peak) pattern present in all others.

In the early group TAG was higher at the 4th h and lower at the 6th and 8th h as compared to late responders. FP TAG and the 2nd h responses were similar among all groups as well as peak TAG concentrations (Figure 1-1).

The early responders increased TAG from baseline to the 2nd, 4th and 6th h; the late and biphasic increased from baseline to the 2nd, 4th, 6th and 8th h (Figure 1-1). There were no differences in the magnitude of postalimentary lipemia as measured by the TAG AUCs and AUICs (Figure 1-2).

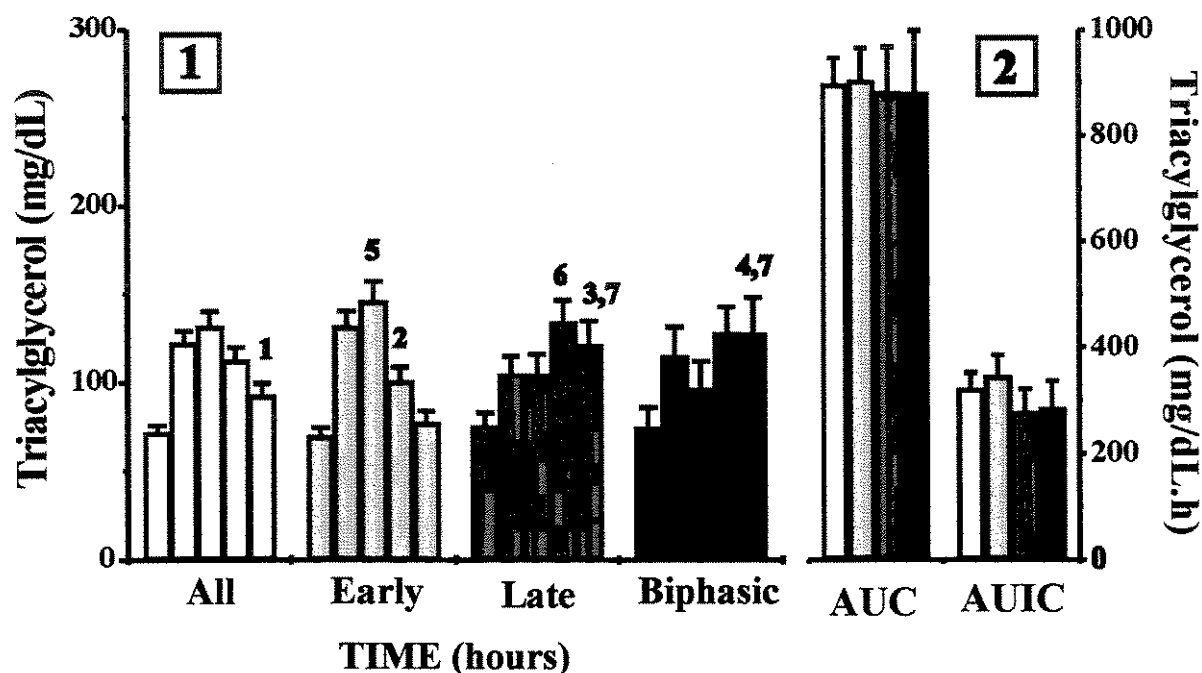


Figure 1 – PLASMA TRIACYLGLYCEROL RESPONSE GROUPS AND TAG AUC AND AUIC AFTER A STANDARDIZED FAT MEAL: Data as $\bar{x} \pm \text{SEM}$. TAG response groups (*n*): All individuals (60), early (39), late (21) and biphasic (10); **1** TAG (mg/dL): at 0, 2, 4, 6 and 8h by groups; all individuals, ¹ $P \leq 0.0002$, it increases from 0 to 2, 4, 6 and 8h; early, ² $P \leq 0.00001$, it increases from 0 to 2, to 4 and to 6 h; in late, ³ $P \leq 0.0033$, it increases from 0 to 2, to 4, to 6 and to 8h; biphasic groups, ⁴ $P \leq 0.017$, TAG increases from 0 to 2, to 4, to 6 and to 8h. TAG in fast, at 2h and at peaks among groups: not significant (NS); ⁵ $P \leq 0.0169$, TAG at 4 h, in early higher than in late and biphasic; ⁶ $P \leq 0.045$, TAG at 6h, in early lower than in late; ⁷ $P \leq 0.0022$, TAG at 8 h, in early lower than in late and biphasic; **2** TAG AUC and AUIC by groups (mg/dL.h): NS among groups

Table 1 presents the anthropometric and biochemical characteristics of the participants. No differences were found among the three phenotypes for: age, gender, body mass indexes (BMI), waist circumference, blood pressure (BP), carotid IMT; TAG, chol, LDL-chol, CETP activity and anti-oxi LDL in fast and TAG peak and in fast FFA, HL activity, glucose and insulin. However metabolically the groups had a quite diverse metabolic behavior in the fasting and postalimentary periods.

Table 1 - ANTHROPOMETRIC AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF THE PARTICIPANTS IN FASTING AND POSTALIMENTARY PERIODS

Parameters	GROUPS			
	ALL (n=44-60)	EARLY (n=28-39)	LATE (n=15-21)	BIPHASIC (n=6-10)
Age (years)	29±8	30±7	28±8	27±8
Gender (F/M)	29/31	21/18	8/13	3/7
BMI (kg/m ²)	22±2	23±2	22±2	23±2
Waist circumference (cm)	74±6	75±6	73±7	74±6
Systolic BP (mmHg)	115±10	113±10	117±9	120±11
Diastolic BP (mmHg)	75±8	74±8	76±8	78±8
Carotid IMT (mm)	0.58±0.06	0.57±0.06	0.57±0.06	0.55±0.04
FP TAG (mg/dL)	72±31	70±29	75±35	75±36
TAG peak (mg/dL)	150±64	153±66	146±61	150±61
FP chol (mg/dL)	156±29	160±29	150±29	152±20
TAG peak chol (mg/dL)	155±30	158±29	149±30	150±20
FP LDL-cholesterol (mg/dL)	95±23	96±22	91±24	94±20
TAG peak LDL-cholesterol (mg/dL)	84±21	86±20	81±22	82±16
FP HDL-cholesterol (mg/dL)	49±11	52±11	44±9 ¹	43±8 ¹
TAG peak HDL-cholesterol (mg/dL)	47±12	50±12	43±9 ²	43±9
FP FFA (mmol/L)	0.7±0.3	0.7±0.3	0.7±0.4	0.7±0.5
TAG peak FFA (mmol/L)	0.7±0.3	0.6±0.2	0.9±0.4 ³	0.9±0.5 ³
FP LPL (nmol FFA/mL/h)	2303±792	2114±789	2667±682 ⁴	3010±565 ⁴
FP HL (nmol FFA/mL/h)	2861±1284	2889±1211	2808±1457	3249±1445
FP CETP (%)	17±6	17±7	19±6	19±4
TAG peak CETP (%)	22±8	22±8	22±8	22±9
FP Glucose (mg/dL)	84±8	85±8	83±7	84±8
FP Insulin (μIU/mL)	3.5±1.9	3.8±2.1	2.8±1.4	2.4±0.4
TAG peak Insulin (μIU/mL)	29±26	39±27	10±9 ⁵	8±6 ⁵
FP anti-oxi LDL (%)	42±24	41±25	44±24	46±26
TAG peak anti-oxi LDL (%)	51±25	52±25	48±25	39±15

n=number of subjects; Data as $\bar{x} \pm SD$; BMI= body mass index; BP= blood pressure; Carotid IMT= carotid intima-media thickness; FP= fasting period; TAG peak= time of highest TAG concentration; LPL= lipoprotein lipase; HL= hepatic lipase; CETP= cholesteryl ester transfer protein; Anti-oxi LDL= autoantibodies to epitopes of oxidized LDL; ¹P=0.0035, ²P=0.0473, ³P=0.006, ⁴P=0.0044, ⁵P≤0.00001, different from the early group.

FP and TAG peak HDL-cholesterol were 15 and 17% lower in late and biphasic responders than in early; FFA in TAG peak was 33% lower in the early group than in late and biphasic responders, but at the 4th h, peak period of the early group, FFA was higher than in late and biphasic responders (Figure 2-1). The FFA in early responders increased from baseline to the 8th h and in late responders, decreased from baseline to the 2nd and the 4th h and then increased to the 8th h (Figure 2-1).

FP LPL was 21 and 30% lower in early than respectively in late and biphasic responders (Table 1).

Insulin in the TAG peak period was 74 and 79% lower in the late and biphasic groups as compared to early (Table 1 and Figure 2-2). All phenotypes increased their insulin concentrations up to their TAG peaks after the meal (Figure 2-2).

CETP in the FP and in TAG peak period was equal in the late and biphasic groups as compared to early. The early and late responders increased their CETP activities up to their TAG peaks period after the meal but not the biphasic groups (Table 1 and Figure 2-3).

The apo E genotypes identified were: two homozygotes (E3/3, E4/4) and 3 heterozygotes (E2/3, E2/4, E3/4). The apolipoprotein E distribution was similar among the responders ($P=0.667$, not shown).

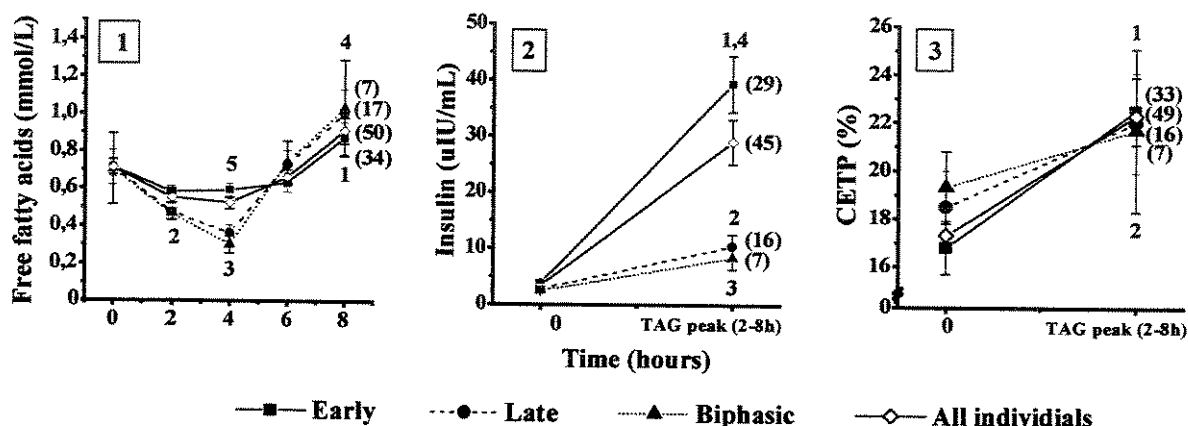


Figure 2 – FASTING AND POSTALIMENTARY PLASMA FREE FATTY ACIDS, INSULIN AND CHOLESTERYL ESTER TRANSFER PROTEIN AFTER A STANDARDIZED FAT MEAL IN ALL, EARLY, LATE AND BIPHASIC INDIVIDUALS

Data as $\bar{x} \pm \text{SEM}$. (n)= number of individuals. **1** Free fatty acids: early, $^1P \leq 0.045$, it increases from baseline to 8thh; late, $^2P \leq 0.04$, it decreases from 0 to 2nd h, and to the 4th, $^3P \leq 0.005$; it increases to 8thh, $^4P \leq 0.012$; $^5P \leq 0.00001$ at 4thh, early higher than late and biphasic. **2** Insulin: $^1P \leq 0.00001$, $^2P \leq 0.0009$, $^3P \leq 0.018$, respectively in groups early, late and biphasic, it increases from baseline to 4h; $^4P \leq 0.00001$, the peak, early higher than late and biphasic; **3** Cholesteryl ester transfer protein (CETP): groups early and late, it increases from baseline to 4h: $^1P \leq 0.002$, $^2P \leq 0.044$, respectively. Biphasic: NS; P at 4h: NS.

Table 2 presents the bivariate correlations: for all individuals, positive correlations were shown between carotid IMT and systolic blood pressure, TAG points (FP, 4th and 6thh), TAG AUC and AUIC, chol at the 0 and 6h, AUC chol and fasting LDL-chol.

In the early group no correlation was found between carotid IMT which may be partly due to the negative correlation between TAG peak anti-oxi LDL and TAG at the 2nd and 4th h, TAG AUC and AUIC and FFA AUIC, suggesting a more efficient clearance of anti-oxi LDL in the postprandial period in early responders.

In contrast, in the late group carotid IMT was positively and strongly correlated with BMI, TAG at all times and TAG AUC, fasting chol and LDL-chol and also with TAG peak anti-oxi LDL. Anti-oxi LDL associated negatively with SBP, HL and FP CETP, indicating a possible role of these two proteins in generating substrates for oxidation. Chol associated with anti-oxi LDL TAG peak. No correlations with insulin or LPL were found in late responders, suggesting a relative resistance to these regulatory mechanisms.

Table 2- UNIVARIATE REGRESSION ANALYSIS OF THE RELATIONSHIPS BETWEEN ANTHROPOMETRIC AND METABOLIC PARAMETERS AND ATHEROSCLEROSIS BIOMARKERS

Phenotypes	All individuals (46)	Early (28)	Late* (14-15)		
Parameters	Carotid IMT	TAG peak anti-oxi LDL	Carotid IMT	FP TAG anti- oxi LDL	TAG peak anti-oxi LDL
BMI			0.54 0.04		
SBP	0.31 0.023			-0.54 0.037	
FP TAG	0.43 0.003		0.68 0.005		
TAG 2h		-0.48 0.010	0.52 0.048		
TAG 4h	0.53 0.017	-0.42 0.010	0.59 0.021		
TAG 6h	0.31 0.032		0.59 0.019		
TAG 8h			0.68 0.014		
TAG AUC	0.36 0.014	-0.39 0.038	0.65 0.008		
TAG AUIC	0.30 0.047	-0.51 0.005			
AGL AUIC		-0.39 0.042			
FP Chol	0.29 0.05		0.65 0.008		0.55 0.028
Chol 6h	0.30 0.046				
Chol AUC	0.30 0.045				
FP LDL-cho	0.29 0.048		0.63 0.01 0.048		
TAG peak anti-oxi LDL			0.54 0.048		
FP CETP					-0.52 0.046
FP HL				-0.51 0.044	

*late and biphasic phenotypes were pooled to reach statistical power; Carotid IMT= carotid intima-media thickness; Anti-oxi LDL= autoantibodies to epitopes of oxidized LDL; BMI= body mass index; BP= blood pressure; FP= fasting period; TAG= triacylglycerol; AUC= area under the curves; AUIC= area under incremental curves; FFA=free fatty acids; Chol = cholesterol; LDL-cho = cholesterol of low density lipoprotein; CETP= cholesteryl ester transfer protein; HL= hepatic lipase. r = Spearman correlation coefficients; P = probability; n =number of subjects.

Discussion

The variations of lipids and lipoproteins in response to a fat meal were determined with special emphasis on their associations with clinical and circulating atherosclerosis biomarkers.

To explain the behaviour of late and biphasic responders a phenomenon of fat carry-over from one previous meal to the postalimentary period of the subsequent meal was described by several authors (27). These stored chylomicrons might be either in enterocytes or in the lymphatic vessels (28). Since in this study the biphasic participants had fasted for 12 h before the liquid meal, it is not very likely that they had stored chylomicrons from a previous meal, but rather that they were formed following the more recent ingestion. The second, 6th h peak, could be explained by increased VLDL production and reflects the preferential clearance of chylomicrons in the postalimentary period (29). The extension of TAG-rich lipoproteins residence times in contrast to early responders, generates substrate availability for oxidation of VLDL and LDL, thereby inducing local inflammatory stimulus, generation of autoantibodies to epitopes of LDL and plaque formation in the artery wall (30, 31).

Late and biphasic responders presented lower fasting and TAG peak plasma of HDL cholesterol (16%) as compared to early responders. Since HDL has several effects on inhibiting atherogenesis, like playing a role in reverse cholesterol transport, acting as an antioxidant, a profibrinolytic or as an antithrombogenic agent, its reduction is implicated in an increase in the risk of atherosclerosis (32, 33). There is also an inverse relationship between circulating HDL-chol and TAG.

The absent CETP response in biphasic during the postalimentary period would favor the accumulation of triacylglycerol-rich lipoproteins. When CETP activity is reduced, the transfer of lecithin:cholesterol acyltransferase-derived cholesteryl esters from HDL to other lipoprotein fractions is reduced and as a result the total core lipid content and the particle surface of HDL increase. In addition, the clearance of TAG-rich lipoproteins becomes reduced. This is in accord with the higher TAG at the 6th and 8thh after the meal in the late group. The mechanism(s) underlying the reduction of CETP activity in biphasic responders is unknown, but it could be partially related to their reduced HDL cholesterol concentration and to chemical modifications of the donor lipoprotein pool.

In late responders at the TAG peak period the insulin concentration was much lower (-77%) than in the early group. We postulate that the diminished response is a metabolic consequence of previous meals, due to a chronic and regular proximity between them and their synergistic effects. The response profile is more like the one of the fasting period. In accordance with this hypothesis no TAG peaks were observed at 4th h and fasting LPL activity was higher (26%) in late responders, reflecting a previous meal effect. Furthermore, the similar TAG between early and late groups could reflect the increased lipolysis in the last group.

In early responders, FFA concentrations increased up to 8h after the meal. In late and biphasic responders, despite the reduced insulin concentrations, the paradoxical 43% decrease in FFA's concentration at 4h was seen and an increase again up to the 8th h. The decrease in FFA is suggestive of a stimulated tissue uptake or a hyperresponsiveness to insulin. In addition to that a decreased postalimentary lipolysis mediated by lipoprotein lipase should be speculated, although the activities of lipases were not measured in the postalimentary period. Moreover the decreased insulin concentration observed in these late responders in the postalimentary period could favor the increase of circulating fatty acids from the adipose tissue, with increased liver production of VLDL and a decreased lipolysis rate of TAG-rich lipoproteins. This agrees with the observation of a higher 6th and 8thh TAG in the late group.

The strong relationships present only in late responders of IMT not only with lipemia but also with anti-oxi LDL, an indirect atherosclerosis marker, is a relevant estimation of their increased CHD risk. Sub-clinical carotid atherosclerosis has been related to age, sex, smoking, high LDL cholesterol and with postalimentary lipemia (10, 34). In early responders the correlations with TAG AUC and AUIC were more physiological, like a positive one with insulin, negative with LPL, negative with HDL-chol. The negative correlation with anti-oxi LDL is suggestive of a protective function of these antibodies in early responders (35).

This study is the first to provide a detailed characterization of a postalimentary insulin resistance state combined with a reduced CETP response, exclusive to late and biphasic responders. It is shown that in asymptomatic adults a fat diet can carry on more or less potential atherogenic changes depending on the individual response phenotype.

Further work among is required for easier identification of the riskier response phenotypes and for further understanding of the mechanisms of their increased atherogenicity.

Acknowledgements

The excellent clinical and technical assistance provided by Dr Denise Kaplan, Miriam Danelon and Aparecida de Sousa is acknowledged as well as the support from Dr Edna Nakandakare and the Laboratory of Lipids, Medical School of the University of São Paulo. This work was supported in part by grants from *the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)*, *Fundo de Apoio à Pesquisa da Universidade de Campinas (FAEP)*, *São Paulo*, and *Coordenação de Aperfeiçoamento de Ensino Superior (CAPES)*, Brazil.

References

1. Malloy MJ and Kane JP. A risk factor for atherosclerosis: triglyceride-rich lipoproteins. *Adv Intern Med* 2001; 47: 111-36.
2. Stavenow L and Kjellstrom T. Influence of serum triglyceride levels on the risk for myocardial infarction in 12,510 middle aged males: interaction with serum cholesterol. *Atherosclerosis* 1999; 147(2): 243-7.
3. Roche HM, Gibney MJ. The impact of postprandial lipemia in accelerating atherothrombosis. *Journal Cardiovascular Risk* 2000;7: 317-324.
4. Cohn JS. Postprandial lipemia: emerging evidence for atherogenicity of remnant lipoproteins. *Can J Cardiol* 1998; 14 Suppl B: 18B-27B.
5. Proctor SD, Vine DF and Mamo JC. Arterial retention of apolipoprotein B(48)- and B(100)-containing lipoproteins in atherogenesis. *Curr Opin Lipidol* 2002;13(5):461-70.
6. Zilversmit DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation* 1979; 60: 473-485.
7. Sniderman AD. Postprandial hypertriglyceridemia(s): time to enlarge our pathophysiologic perspective. *Eur J Clin Invest* 2000; 30(11): 935-7.
8. Hodis HN, Mack WJ, Dunn M, Liu C, Liu C, Selzer RH, and. Krauss RM. Intermediate-Density Lipoproteins and Progression of Carotid Arterial Wall Intima-Media Thickness. *Circulation* 1997; 95: 2022-6.
9. Karpe F, de Faire U, Mercuri M, Bond MG, Hellenius ML and Hamsten A. Magnitude of alimentary lipemia is related to intima-media thickness of the common carotid artery in middle-aged men. *Atherosclerosis* 1998; 141(2): 307-14.
10. Boquist S, Ruotolo G, Tang R, Björkegren J, Bond MG, de Faire U, Karpe F and Hamsten A. Alimentary Lipemia, Postprandial Triglyceride-Rich Lipoproteins, and Common Carotid Intima-Media Thickness in Healthy, Middle-Aged Men. *Circulation* 1999; 100: 723-728.

11. Kofoed SC, Gronholdt ML, Bismuth J, Wilhjelm JE, Sillesen H, Nordestgaard BG. Echolucent, rupture-prone carotid plaques associated with elevated triglyceride-rich lipoproteins, particularly in women. *J Vasc Surg* 2002; 36(4): 783-92.
12. Karpe F, Hellenius ML, and Hamsten A. Differences in postprandial concentrations of very-low-density lipoprotein and chylomicron remnants between normotriglyceridemic and hypertriglyceridemic men with and without coronary heart disease. *Metabolism* 1999; 48(3): 301-7.
13. Simpson HS, Williamson CM, Olivecrona T, Pringle S, Maclean J, Lorimer AR, Bonnefous F, Bogaievsky Y, Packard CJ, and Shepherd J. Postprandial lipemia, fenofibrate and coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1990; 85(2-3): 193-202.
14. Simons PC, Algra A, Bots ML, Grobbee DE, Van Der Graaf Y. Common carotid intima-media thickness and arterial stiffness: indicators of cardiovascular risk in high-risk patients. The SMART Study (Second Manifestations of Arterial Disease). *Circulation* 1999; 100: 951-7.
15. Espeland MA, Craven TE, Riley WA, Corson J, Romont A, Furberg CD. Reliability of longitudinal ultrasonographic measurements of carotid intimal-medial thicknesses. Asymptomatic Carotid Artery Progression Study Research Group. *Stroke* 1996; 27(3): 480-5.
16. Rosfors S, Hallerstrom S, Jensen-Urstad K, Zetterling M, Carlstrom C. Relationship between intima-media thickness in the common carotid artery and atherosclerosis in the carotid bifurcation. *Stroke* 1998; 29(7): 1378 - 82.
17. Maggi E, Perani G, Falaschi F, Frattoni A, Martignoni A, Finardi G, Stefano PL, Simeone F, Paolini G, DeVecchi E, et al. Autoantibodies against oxidized low density lipoproteins in patients with coronary disease. *Presse Med* 1994; 23(25): 1158-62.
18. Tsai WC, Li YH, Chao TH, Chen JH. Relation between antibody against oxidized low-density lipoprotein and extent of coronary atherosclerosis. *J Formos Med Assoc.* 2002;101(10):681-4.

19. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III): final report. *Circulation* 2002; 106:3143-421.
20. Ehnholm C, Kuusi T. Preparation, characterization and measurement of hepatic lipase. *Methods Enzymol* 1986;129:716-38.
21. Lagrost L. Determination of the mass concentration and the activity of the plasma cholesteryl ester transfer protein (CETP). *Methods Mol Biol*, 1998; 110: 231- 241.
22. Emi M, Wu LL, Robertson MA, Myers RL, Hegele RA, Williams RR et al. Genotyping and sequence analysis of apolipoprotein E isoforms. *Genomics* 1988;3:373-9.
23. Hixson JE and Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res* 1990;31:545-548.
24. Gidlund M, Damasceno NR, Lindoso JA, Abdalla DS and Goto H. Monoclonal antibodies against low density lipoprotein with various degrees of oxidative modifications. *Braz J Med Biol Res* 1996;29:1625-8.
25. Carallo C, Irace C, Pujia A, De Franceschi MS, Crescenzo A, Motti C et al. Evaluation of common carotid hemodynamic forces. Relations with wall thickening. *Hypertension* 1999; 34: 217-21.
26. Espeland MA, Tang R, Terry JG, Davis DH, Mercuri M, Crouse JR 3rd. Associations of risk factors with segment-specific intimal-medial thickness of the extracranial carotid artery. *Stroke* 1999; 30:1047-55.
27. Fielding BA, Callow J, Owen RM, Samra JS, Matthews DR and Frayn KN. Postprandial lipemia: the origin of an early peak studied by specific dietary fatty acid intake during sequential meals. *Am J Clinical Nutrition* 1996; 63:36-41.

28. Mattes RD. Oral Fat Exposure Increases the First Phase Triacylglycerol Concentration Due to Release of Stored Lipid in Humans. *J Nutr* 2002; 132:3656-3662.
29. Robins SJ, Fasulo JM, Robins VF and Patton GM. Response of serum triglycerides of endogenous origin to the administration of triglyceride-rich lipid particles. *Am J Physiol - Legacy Content* 1989; 257(6 Pt 1):E860-5.
30. Hollander W. Role of arterial lipoproteins in the formation of the fibrous plaque. *Adv Exp Med Biol* 1977; 82: 793-9.
31. Mazzone T, Lopez C and Bergstraesser L. Modification of very low density lipoproteins leads to macrophage scavenger receptor uptake and cholesteryl ester deposition. *Arterioscler. Thromb Vasc Biol* 1987; 7:191-19.
32. Gordon DJ, Rifkind BM. High-density lipoprotein--the clinical implications of recent studies. *N Engl J Med* 1989; 321(19):1311-6.
33. Spieker LE, Ruschitzka F, Luscher TF and Noll G. HDL and inflammation in atherosclerosis. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord* 2004; 4(1):51-7.
34. Karpe F, Boquist S, Tang R, Bond GM, de Faire U and Hamsten A. Remnant lipoproteins are related to intima-media thickness of the carotid artery independently of LDL cholesterol and plasma triglycerides. *J Lipid Res* 2001; 42:17-21.
35. Fukumoto M, Shoji T, Emoto M, Kawagishi T, Okuno Y, Nishizawa Y. Antibodies against oxidized LDL and carotid artery intima-media thickness in a healthy population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(3): 703-7.

TRABALHO CIENTÍFICO 2

METABOLIC, ANTHROPOMETRIC AND SEX-DEPENDENT VARIABLES IN THE MODULATION OF POSTALIMENTARY LIPEMIA

Juliana Tentor¹, Lila M Harada², Ruy Nakamura^{1,3}, Magnus Gidlund⁴, Lúcia N Castilho¹; Eliana C de Faria¹

Department of Clinical Pathology, NMCE, UNICAMP, Campinas, São Paulo - Brazil¹;

Laboratory of Lipids FM – USP, São Paulo, São Paulo - Brazil²;

Diagnostic Image Laboratory, Campinas, São Paulo - Brazil³;

Laboratory of Immunophysiopathology, ICB-USP and IMT-SP, São Paulo, Brazil⁴.

Correspondence:

Eliana C de Faria

Mailing address: Tessália Vieira de Camargo, 126 -Department of Clinical Pathology, FCM -UNICAMP, Barão Geraldo. CEP:13084-971

Phone: 0055xx19 37887064

FAX: 0055xx19 37889434

E-mail: cotta@fcm.unicamp.br

Abstract

Objective: To quantify in young adults the sex-dependent differences in the lipemic responses to a fat meal, measure their association with markers of atherosclerosis and determine their metabolic regulators.

Methods: Forty-nine normolipidemic volunteers, between 19 and 45 years old, 25 women and 24 men, were matched according to age, body mass index, waist circumference, diet, physical activity and apolipoprotein E genotyping. After receiving a standardized fat meal (40g fat/m² of body surface area) serial blood samples were collected for several analyses. Common carotid intima-media thickness was also measured.

Results: The lipemic responses estimated by summary measures of curves were much greater in men than in women for plasma triacylglycerol, cholesterol and triacylglycerol of triacylglycerol-rich lipoproteins, free fatty acids, phospholipids and apolipoprotein B100. Men presented higher blood pressure, carotid intima-media thickness, triacylglycerol, hepatic lipase, insulin and lower HDL cholesterol, apolipoprotein AI, free fatty acids. Only in men did carotid intima-media thickness correlate positively with titers of autoantibodies to epitopes of oxidized LDL ($r=0.48$, $P=0.03$) and postprandial triacylglycerol ($r=0.44$, $P=0.04$). Only in men lipemia was negatively related to the autoantibodies, probably as a result of an increased formation of immune complexes. The multivariate analysis indicated as strong determinants of lipemia in women: age ($R^2=45\%$), waist circumference ($R^2=19\%$), phospholipids ($R^2=39\%$), free fatty acids ($R^2=29\%$), insulin ($R^2=17\%$), and lipoprotein lipase ($R^2=16\%$), cholesteryl ester transfer protein with as a secondary factor ($R^2=6\%$); and in men, only insulin ($R^2=55\%$) and phospholipids ($R^2=37\%$).

Conclusions: We provided data explaining that postprandial lipemia is differently regulated by gender. Several risk factors for coronary heart disease as well as significant associations with atherosclerosis biomarkers were found only in men.

Keywords: postprandial lipoprotein metabolism, gender, atherosclerosis, carotid intima-media thickness, autoantibodies to epitopes of oxidized LDL

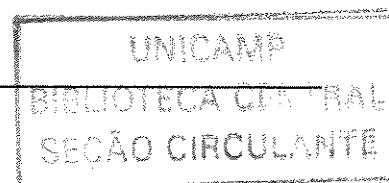
Introduction

Increased postalimentary lipemia has been positively associated with risk for development of coronary heart disease (CHD). In part, this may be explained by slower removal of triacylglycerol-rich lipoproteins (TRL) in the postalimentary period and their deposition in the subendothelial region of the arterial wall, the formation of atherogenic small dense low-density lipoprotein (LDL) particles and a reduction in the concentration of cardioprotective high-density lipoproteins (HDL) (1, 2, 3, 4). Also postalimentary lipemia interacts with the thrombotic process in which an elevated concentration of postalimentary triacylglycerol-rich particles has the ability to activate the coagulation factor VII and plasminogen activator inhibitor (3).

It is well established that the prevalence of coronary heart disease in men is higher than in women before menopause, but that later women/men ratio of coronary heart disease death increases (5, 6, 7). There are multiple causes for this, which are not completely understood, but estrogens affect favorably several aspects of cardiovascular disease, the plasma lipid profile (8), the oxidability of LDL (9) and the endothelial function (10).

The postalimentary lipid metabolism differs between the sexes and men present higher lipemia (11, 12, 13). The complete regulation of this increased response is not well known. Some authors associate it with increased TRL production and decreased plasma clearance (11, 12). Increased visceral fat has been pointed as an important contributing factor (13, 14).

The major aim of this study was to determine which metabolic variables were responsible for the sex differences in postalimentary lipemia. To achieve this goal, 25 women and 24 men, all asymptomatics were examined up to 8 hours (h) after a standardized fat meal.



Material And Methods

Forty-nine healthy volunteers, twenty-five women and 24 men, aged between 19 and 45 years (y), normolipidemic according to the National Panel of Cholesterol Experts (15), without any cardiovascular risk factors or established CHD were selected. They answered a questionnaire containing information on diet, physical exercise, use of tobacco, alcoholism, anterior and familial CHD.

These individuals were submitted to an oral fat tolerance test. The test began by venous puncture after a 12-hour fast, followed by ingestion of a milkshake prepared with lactose-free NAN (Nestlé, Brazil) powdered milk providing 40g fat/m² of body surface. Serial blood samples were collected at the 2nd, 4th, 6th and 8th hours after ingestion. The measurements were performed on samples from all time points or from the TAG peak and/or 8th h.

The TRL of density <1.006 g/L were isolated by sequential ultracentrifugation (to 40,000 rpm, 16 hours, 4°C in a Beckman centrifuge model L5-75B, Palo Alto, USA). Cholesterol (Chol) and triacylglycerol (TAG) in sera and in TRL particles were measured by enzymatic-colorimetric methods at all times (Hitachi 917-Roche); LDL-Chol and HDL-Chol were analyzed by homogeneous direct enzymatic-colorimetric method. Fasting HDL (HDL₂ and HDL₃) subfractions were obtained by sequential microultracentrifugation of the supernatants obtained after precipitation of lipoprotein containing apolipoprotein B100 with dextran sulfate (Beckman microultracentrifuge, Palo Alto, USA), with posterior Chol and TAG quantification by enzymatic-colorimetric methods. Apolipoproteins (Apo) AI and B100 and Lipoprotein (a) (Lp(a)) were analyzed by nephelometry; free fatty acids (FFA), phospholipids (PL) and free cholesterol (FC) through enzymatic-colorimetric methods (Waco). Cholesteryl esters (CE) were estimated by the difference between Chol and FC.

Lipoprotein lipase (LPL) and hepatic lipase (HL) activities were measured in post-heparin plasma samples, on the basis of fatty acid release, using a radiolabeled triolein emulsion as the substrate and NaCl (1M) as the LPL inhibitor, with results expressed as nmol FFA/mL/hour (16).

Cholesteryl-ester transfer protein (CETP) activity was determined by an exogenous assay that measures the transfer of radiolabeled cholesteryl ester (CE) between a normal donor pool of ^{14}C -HDL and an unlabeled acceptor mixture of VLDL plus LDL over 4h, using plasma as the CETP source and with results expressed as a percentage of cholesteryl ester transferred (17).

The phospholipid transfer protein (PLTP) was measured by an exogenous radiometric method using phospholipid liposomes as the substrate (18) and an HDL pool, obtained from plasma donors, as the acceptor. The activity was expressed as the rate of radioactively labeled phospholipid transfer per hour.

The assays for CETP, PLTP and lipases activities were conducted in triplicate. The interassay coefficients of variation were 12%, 2%, 9% and 8% respectively for CETP, PLTP, LPL and HL.

DNA was obtained from peripheral blood samples by conventional methods. Restriction analysis of the PCR-amplified Apo E DNA fragments was performed as previously reported (19, 20).

The autoantibodies to epitopes of oxidized LDL (anti-oxi LDL) were evaluated in all participants by ELISA after the samples were incubated with copper-oxidized LDL (21). The results are presented as percentages of the OD readings relative to the group ranked values.

The carotid intima-media thickness (IMT) was measured by ultrasonography using the HDI 1500 Ultrasound System equipment (ATL Ultrasound, Bothell, USA), with a 7-12MHz color Doppler probe. The carotid IMT was calculated as the mean of five measurements in the far wall from the left and right common carotid arteries according to a standardized method (22, 23). The individual results were expressed as an average of the left and right carotid IMT in millimeters (mm).

All procedures followed were in accordance with the Research Ethics Committee of the School of Medicine of the State University of Campinas, São Paulo.

Statistics

The significance level chosen was 5%. The variables insulin, TAG, FC, FFA, CETP, anti-oxi-LDL, TRL Chol and TAG were log transformed.

The trapezoidal method was used for estimation of the area(s) under the curves (AUC) and area under the incremental curves (AUIC). The slopes of the individual curves were determined by linear regression analysis and expressed as the acquisition rate (AR), from 0h to peak and as the removal rate (RR), from peak to the time with the lowest concentration.

The repeated measures ANOVA with *post hoc* Tukey and/or with the profile test were used for evaluation of postprandial responses with time, differences between the sexes and the interaction of time and sex. The Chi-Square and Fisher's exact test were used for categorical variables. The Student's t test was used to compare the summary measures of curves and slopes.

Pearson's correlation related the variables in both groups.

A hierarchical multiple linear regression analysis was used to assess the influence of specific plasma factors on postprandial lipemia, as the summary measures of curves. The results are expressed as coefficients of determination, R^2 , that represent the percentage of variation in the dependent variables (TAG AUC, AUIC, AR and RR) explained by the independent variables (age, WC, BMI, diet, physical activity, Apo E genotyping, insulin, PLTP, HL, LPL, CETP, FFA AUC and AUIC, PL AUC and AUIC).

Results

Baseline parameters:

The anthropometric and metabolic characteristics of the participants are shown in Table 1. They were young adults (31 ± 8 y, women and 27 ± 6 y, men) matched by age, WC, BMI and diastolic blood pressure (DBP) as well as diet and exercise (not shown). Systolic blood pressure (SBP) and carotid IMT were higher in men (Table 1).

All biochemical baseline analyses were within the reference limits. Women presented increased HDL-Chol, HDL₃-Chol, Apo AI and FFA levels, and decreased TAG (ranges in mg/dL, women, 32 to 141 and men, 32 to 158) and LH activity, when compared to men.

The Apo E genotypes were not different between the sexes ($P=0.316$). The distribution was: women, E2/E3, 1; E2/E4, 1; E3/E3, 13; E3/E4, 7; men, E2/E3, 5; E2/E4, 2; E3/E3, 12; E3/E4, 4; E4/E4, 1 (not shown).

Table 1 – ANTHROPHOMETRIC AND FASTING LABORATORY DATAS OF THE PARTICIPANTS BY SEX

VARIABLES		Women (19-25)		Men (22-24)	
Age (years)	31	±	8	27	± 6
BMI (kg/m ²)	22	±	2	23	± 2
WC (cm)	73	±	6	77	± 7
SBP (mm Hg)	111	±	8	119	± 9 ¹
DBP (mm Hg)	73	±	8	77	± 7
Carotid IMT (mm)	0.56	±	0.05	0.60	± 0.06 ²
Glucose (mg/dL)	84	±	10	84	± 8
Insulin (μUI/mL)	3.7	±	2.4	3.3	± 1.5
TAG (mg/dL)	61	±	25	77	± 31 ³
Chol (mg/dL)	156	±	31	149	± 20
FC (mg/dL)	47	±	17	45	± 13
CE (mg/dL)	110	±	26	104	± 18
LDL chol (mg/dL)	94	±	23	90	± 21
HDL-chol (mg/dL)	52	±	8	46	± 9 ³
HDL ₂ -chol (mg/dL)	12	±	3	11	± 3
HDL ₃ -chol (mg/dL)	39	±	7	33	± 7 ³
HDL ₂ TAG (mg/dL)	7	±	5	5	± 3
HDL ₃ TAG (mg/dL)	16	±	10	14	± 7
NHDL-chol (mg/dL)	104	±	27	103	± 25
Apo AI (mg/dL)	145	±	24	132	± 18 ⁴
Apo B100 (mg/dL)	70	±	17	72	± 18
FFA (mmol/L)	0.79	±	0.32	0.59	± 0.25 ⁵
PL (mg/dL)	210	±	43	184	± 50
Lp(a) (mg/dL)	23	±	32	22	± 28
CETP (%)	18	±	7	19	± 5
PLTP (%)	9	±	4	10	± 5
LPL (nmol FFA/mL/h)	2454	±	810	2214	± 751
LH (nmol FFA/mL/h)	2136	±	1126	3518	± 1089 ⁶
Anti-oxi LDL (%)	33	±	23	32	± 16

Data shown as average ± SD; (n=number of individuals). BMI= body mass index; WC= waist circumference; SBP= systolic blood pressure; DBP= diastolic blood pressure; IMT= carotid intima-media thickness; TAG= triacylglycerol; Chol= total cholesterol; FC= free cholesterol; CE= cholesteryl ester; HDL₂ and HDL₃= HDL subfractions; NHDL-chol= non-HDL cholesterol; Apo= apolipoproteins; FFA= free fatty acids; PL= phospholipids; Lp(a) = lipoprotein (a); CETP= activity of cholesteryl ester transfer protein; PLTP= activity of phospholipid transfer protein; LPL= activity of lipoprotein lipase; HL= activity of hepatic lipase; Anti-oxi LDL= autoantibodies to epitopes of oxidized LDL. ¹ $P \leq 0.002$, ² $P \leq 0.021$, ³ $P \leq 0.013$, ⁴ $P \leq 0.032$, ⁵ $P \leq 0.009$, ⁶ $P \leq 0.0001$.

Postalimentary parameters:

The plasma TAG level increased and reached its peak around the 4th h after the meal with equal magnitude in women and men (109±46 and 153±86 mg/dL, respectively) (Figure 1- A); TAG and Chol in TRL were increased at the 2nd h (Figure 1-B and 1-C). Baseline values were reached at the 8th and above 8h, respectively for TAG and TAG TRL, and Chol TRL. The AUC were larger in men for TAG, TAG TRL and Chol TRL (figures 1-A, B, C).

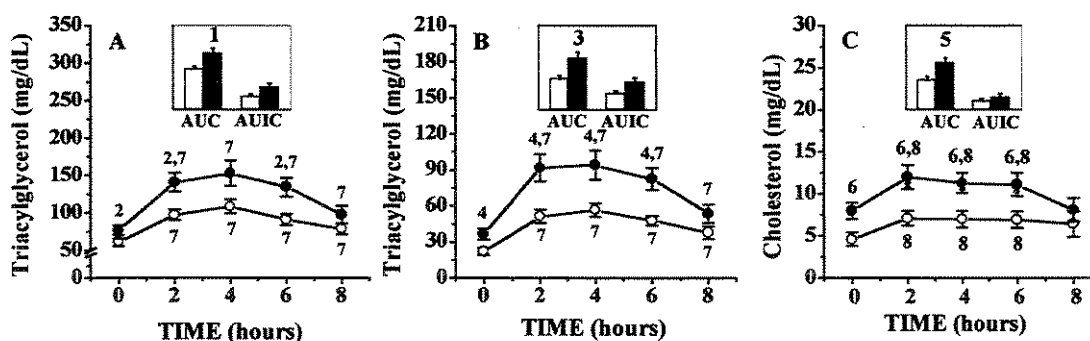


Figure 1- POSTALIMENTARY PLASMA TRIACYLGLYCEROL, AND TRIACYLGLYCEROL AND CHOLESTEROL CONTENTS OF TOTAL TRIACYLGLYCEROL-RICH LIPOPROTEINS IN WOMEN AND MEN

Women (○, white bars) and men (●, black bar); data expressed by means ± SE. A- Total triacylglycerol in plasma ($n=25$ women and 24 men); B- Triacylglycerol in triacylglycerol-rich lipoproteins (TRL) ($n=19$ women and 24 men); C- Cholesterol in TRL ($n=19$ women and 24 men). Bars represent the areas under the curves and the areas under incremental curves. Different from women at ¹ $P \leq 0.008$, ² $P \leq 0.013$, ³ $P \leq 0.0023$, ⁴ $P \leq 0.0024$, ⁵ $P \leq 0.011$, ⁶ $P \leq 0.0143$; differences from fasting values in women and men: ⁷ $P \leq 0.0001$, ⁸ $P \leq 0.0002$.

In men, TAG was increased at the baseline, 2nd, 6th h and TAG TRL and Chol TRL at the baseline, 2nd, 4th and 6th h as compared to women. Also there was a reduction in HDL-Chol and Apo AI at all times (not shown). In men, HDL-Chol decreased at the 2nd, 4th and 6th h and Apo AI at the 4th h (not shown). The HDL acquisition rate decreased as compared to women (not shown).

A significant increase was verified after the meal for TAG and TAG TRL at all times and Chol TRL at the 2nd, 4th and 6th h in both sexes (Figure 1-A, B and C).

Significantly reduced FFA was observed at the 2nd, 4th and 6th h from baseline in women; in men, FFA increased at the 6th and 8th h from baseline. In women, FFA were higher in baseline and lower at the 6th h when compared men (Figure 2-A). The PL and FFA AUIC were larger in men when compared to women (figures 2-A, B).

PL concentration was similar between the sexes. It increased at all the times from baseline in men; in women, the increase happened at the 4th and 8th h from baseline (Figure 2-B).

Fasting CETP activity showed no sex differences, except for its (the) increase in the 4th h (after diet) present only in men (Figure 2-C).

Insulin levels did not present significant differences between the sexes in the fasting period, but it was decreased at the 4th h in men when compared to women. The response was present in both sexes from baseline values (Figure 2-D).

Women presented FC responses at all the times and reduced levels of Chol at the 6th h from baseline. Men had higher levels of FC and smaller of Chol at the 4th and 6th h as compared to the fasting period. Apo B100 were reductions in the responses at the 2nd, 4th, and 6th h in men. No postalimentary differences were found between the sexes for Chol, LDL-Chol, FC, CE, Apo B100 and Lp (a) (not shown).

In men the acquisition rates were higher for FFA and lower for HDL-Chol. The removal rate was lower for TAG TRL and FFA.

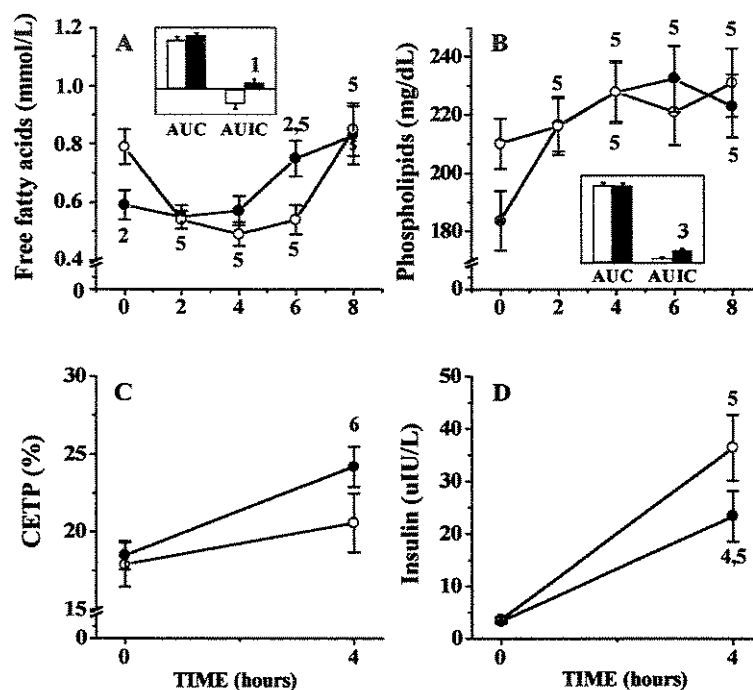


Figure 2- POSTALIMENTARY PLASMA FREE FATTY ACIDS, PHOSPHOLIPIDS, CHOLESTERYL ESTER TRANSFER PROTEIN ACTIVITY AND INSULIN IN WOMEN AND MEN

Women (○, white bars) and men (●, black bars); data as means $\pm$ SE. A- Free fatty acids ($n=24-25$ women and 24 men); B- Phospholipids ($n=25$ women and 24 men); C- Cholesteryl ester transfer protein (CETP) ($n=24-25$ women and 24 men); D- Insulin ($n=20-22$ women and 24 men). Bars represent the areas under the curves (left) and the incremental areas under the curves (right). Different from women at ¹ $P \leq 0.0021$, ² $P \leq 0.0082$, ³ $P \leq 0.0037$, ⁴ $P \leq 0.0168$; different from fasting values in women and men: ⁵ $P \leq 0.0001$, ⁶ $P \leq 0.0381$.

Relationships of postalimentary triacylglycerol to common carotid IMT, autoantibodies to epitopes of ox-LDL and other metabolic variables:

Table 2 summarizes correlations between the metabolic variables and some TAG summary measures of curves. There were several associations of the latter with: age (negative), BMI, WC, PL, insulin and CETP in women; age, insulin, FFA, PL, LPL (negative) and anti-oxi LDL (negative) in men.

There were no associations of IMT with the parameters of TAG summary measures of curves in both sexes.

In women, IMT was correlated with LDL-Chol ($r=0.44$, $P=0.02$), FC ($r=0.46$, $P=0.03$), PL at 8h ($r=0.48$, $P=0.02$) and CETP ($r=-0.42$, $P=0.05$).

In men IMT correlated with TAG 8h ($r=0.44$, $P=0.04$) as well as FC ($r=0.52$, $P=0.01$) and FFA ($r=-0.43$, $P=0.05$). Interestingly, only in men was a correlation between anti-oxi LDL 8h and IMT ($r=0.48$, $P=0.03$).

In women there were associations of anti-oxi LDL with: TAG 8h ($r=0.69$, $P=0.002$), Chol TRL 2h ($r=0.74$, $P=0.001$), TAG TRL 8h ($r=0.53$, $P=0.03$), FC 0h ($r=0.63$, $P=0.005$), LDL-Chol 0h ($r=0.55$, $P=0.02$), FFA 0h ($r=0.50$, $P=0.04$), CETP 0h ($r=-0.71$, $P=0.001$) and LH ($r=-0.51$, $P=0.03$). In men all the correlations were negative: with TAG 6h ($r=-0.46$, $P=0.02$), Chol ($r=-0.52$, $P=0.009$), CE ($r=-0.53$, $P=0.007$), TAG TRL 6h ($r=-0.50$, $P=0.01$), Chol TRL 4h ($r=-0.41$, $P=0.04$), LDL-Chol 6h ($r=-0.48$, $P=0.02$), PL 2h ($r=-0.57$, $P=0.003$), CETP 4h ($r=-0.51$, $P=0.044$).

Table 2 – UNIVARIATE CORRELATION COEFFICIENTS BETWEEN POSTALIMENTARY TRIACYLGLYCEROL RESPONSES AND ANTHROPHOMETRIC AND METABOLIC VARIABLES IN WOMEN AND MEN

GROUPS	VARIABLES (22-25)	TAG AUC		TAG AIUC		TAG AR		TAG RR	
		r	P	r	P	r	P	r	P
Women	Age							-0.49	0.0127
	FP Insulin			0.50	0.0184	0.46	0.0319		
	Slope CETP							0.41	0.0475
	WC					0.43	0.0323		
	BMI					0.45	0.0258		
	PL AUC	0.63	0.0007			0.55	0.0048		
Men	Age	0.42	0.0412						
	FP Insulin	0.73	0.0001			0.42	0.0427		
	TAG peak Insulin	0.49	0.0147	0.57	0.0037	0.77	0.0001		
	Slope Insulin	0.46	0.0232	0.54	0.0065	0.75	0.0001		
	FP LPL	-0.49	0.0153			-0.52	0.0099		
	FFA AIUC	0.45	0.0285						
	PL AUC	0.65	0.0007			0.49	0.0153		
	PL AIUC			0.62	0.0014	0.51	0.0110		
	FP anti-oxi LDL	-0.42	0.0390						
	TAG peak anti-oxi LDL	-0.44	0.0300	-0.44	0.0320			-0.52	0.0100

TAG= Triacylglycerol; AR= acquisition rate; RR= removal rate; AUC = areas under the curves; AIUC = areas under the incremental curves; CETP= cholesteryl ester transfer protein; WC= waist circumference; BMI = body mass index; PL= phospholipids; LPL= lipoprotein lipase; FFA= free fatty acids; Anti-oxi LDL= autoantibodies to epitopes of oxidized LDL. Pearson's correlation coefficients (r); P = value of probability (n = number of individuals).

Multivariate analysis of the relationships of several metabolic variables to measurements of postalimentary TAG responses:

In order to evaluate if some of the observed relationships in the univariate analysis are important to explain the sexes differences and independent of each other, these effects (in women and men) were studied by multiple linear regression analysis (Table 3).

Postalimentary lipemia was determined in women by LPL and age (inverse), insulin, PL, FFA, CETP, WC; in men, by insulin and PL.

The strongest predictors of postalimentary lipemia in women were age (45%), PL (39%) and FFA (29%), with WC (19%) and insulin (17%) accounting for a smaller proportion of the variation. In men, insulin accounted for 55% of the response, likewise PL (37%).

3 – INFLUENCE OF ANTHROPHOMETRIC AND METABOLIC VARIABLES ON TRIACYLGLYCEROL AREAS UNDER THE CURVES, AREAS UNDER THE INCREMENTAL CURVES, AND ACQUISITION AND REMOVAL RATES IN WOMEN AND MEN

GROUPS	MULTIVARIATE MODELS	INDEPENDENT VARIABLES	P-VALUES	PARTIAL AND MULTIPLE R ² (%)
Women (20)	TAG AUC	FFA AUC	0.0001	29
		PL AUC	0.0012	39
				68 *
	TAG AIUC	Insulin 0h	0.0001	4
		FFA AUC	0.0001	22
		LPL 0h	0.0001	16
		WC	0.0001	19
		Slope Insulin	0.0001	8
		TAG peak CETP	0.0040	6
				75 *
	TAG AR	PL AUC	0.0139	25
		Insulin 0h	0.0236	17
		FFA AUC	0.0007	16
		WC	0.0033	11
		LPL 0h	0.0099	12
				81 *
	TAG RR	Age	0.0001	45
Men (23)	TAG AUC	Insulin 0h	0.0001	47
		PL AUC	0.0003	26
				73 *
	TAG AIUC	PL AIUC	0.0154	37
		TAG peak Insulin	0.0405	12
				49 *
	TAG AR	TAG peak Insulin	0.0001	55

Dependent variables: TAG AR, TAG RR, TAG AUC and TAG AIUC. * Multiple R² (%).

TAG= triacylglycerol; AUC = areas under the curves; AIUC = areas under the incremental curves; AR=acquisition rate; RR = removal rate; FFA= free fatty acids; PL= phospholipids; LPL= lipoprotein lipase; WC= waist circumference; CETP= cholesteryl ester transfer protein; BMI= body mass index.

Discussion

The aim of this study was to investigate the factors that modulate postalimentary lipemia in women and men, in a group of healthy young adults (11, 24). Also the association of lipemia with anthropometric and metabolic variables, with carotid intima-media thickness, (a marker of early atherosclerosis), and with a biomarker of oxidation, (autoantibodies to epitopes of oxidized LDL) were measured for each sex, in an attempt to monitor CHD risk.

The main finding was that women presented a more complex regulation of postalimentary lipemia than men, with a wider number of explanatory variables, some of them peculiar to women. Age, WC, FFA, PL and insulin were the main determinants in women that accounted for an important proportion of the variation in lipemia. Also CETP and LPL (negatively) were secondary modulators in women. In men the regulators were insulin and PL, both shared with women.

Gender differences in postalimentary lipemia have been shown by several authors with men presenting increased TAG responses (25, 26).

As compared to women, the higher postalimentary lipemia observed in men was explained by increased Chol and TAG in TRL, giving rise to an atherogenic postalimentary profile. A higher rate of TRL production of intestinal and hepatic origin (27) could be the explanation for this enhancement. It has been shown that the production of VLDL can be lower in women because they suppress more circulating FFA after an oral glucose tolerance test (28).

Another possible explanation for the increased lipemia could be the delayed catabolism of triacylglycerol-rich lipoproteins by LPL and by the liver (29). The increased HL activity in men in this study along with the reduced removal rate of TRL points to a reduced receptor affinity in liver. LPL was similar in both.

Differences in apolipoprotein E genotyping were not able to explain the lipemia in this study, which is in accordance with other studies in the literature (30).

Insulin was similar between the sexes in the fasting period, and in women higher levels were found at the 4th h after the meal. Insulin modulates lipemia in both sexes. This hormone acts on lipoprotein metabolism in several ways: by increasing lipogenesis and suppressing lipolysis in adipose tissue, decreasing the pool of circulating FFA, increasing VLDL production by the liver from FFA and activating LPL. The FFA plasma pool reflects in part insulin activity. As described earlier, women had increased fasting FFA levels (31). We could postulate that men in this study responded to a (the) fat meal with an insulin resistant profile, and this is indicated by a lower insulin concentration at 4thh and higher FFA concentrations at the 6th hour as compared to women. Men also presented larger FFA postalimentary incremental areas and higher acquisition rate (5). The larger FFA flux in men could interfere with the lipolytic process via remnant formation (32). The mechanisms underlying these findings could be an enhanced ability to activate hormone sensitive lipase in visceral fat cells in men and a consequent increased flux in plasma FFA and to the liver followed by VLDL production (33). On the other hand, women showed a reduced FFA response to the meal, consistent with a more efficient plasma FFA extraction.

Phospholipidemia was a strong determinant of lipemia in both sexes. Phospholipids are a major component in HDL and this factor indirectly indicates a regulation by HDL. There is an inverse ratio between TAG and HDL-Chol because HDL is partly produced in plasma through the hydrolysis of TRL (34).

The minor modulators LPL and CETP have well-established actions in triacylglycerol-rich lipoprotein metabolism (32), both favoring TRL catabolism.

CETP was similar in both sexes in the fasting and postalimentary periods, but in men responded to a (the) fat meal by increasing its activity. This finding could reflect the increased amount of TRL, CE acceptors in the transfer process mediated by CETP, in the postalimentary period in men. The lack of response in women could reflect the decreased pool of CE acceptors.

LPL is a classical lipolytic enzyme that has as substrates TAG from TRL. In this study it modulates lipemia only in women, showing a resistant state to lipolysis in men.

Only in women did the WC, an indirect measurement of visceral fat, explain the lipemia. Some studies have shown that visceral fat regulates postalimentary lipemia (13, 35).

Lipemia increases with age (36) and this modulator was found in this study only for women.

The ultrasound measurement of the common carotid was used to assess early stages of atherosclerosis. Since sex, age, Chol and some genotypes are determinants of carotid IMT (37, 38) the two groups were paired for age, Apo E genotypes and LDL-Chol. The classical associations of IMT with LDL-Chol were found in women. Only in men there was an association of postalimentary TAG with IMT. Although young, the men had increased carotid IMT in relation to women, indicating early atherosclerosis.

The fasting and postalimentary anti-oxi LDL titers were similar for both sexes. Only in men were the markers of lipemia negatively related to these autoantibodies, probably as result of an increased formation of immune complexes with oxidized LDL.

In conclusion, these results taken together show that in this young and healthy population postalimentary lipemia is explained by factors peculiar to women: age, WC, FFA, LPL, and CETP as well as factors common to both sexes: PL and insulin.

Men in this study presented higher blood pressure, increased fasting TAG, increased postalimentary lipemia, decreased HDL-Chol and Apo AI and increased LH activity. All these findings contribute to their higher risk of coronary heart disease. Their larger carotid IMT points to early atherosclerosis. The complex and more favorable interplay of variables in women generates a metabolic profile with a lower accumulation of postalimentary atherogenic particles.

Compared to men, women presented smaller blood pressure and carotid IMT, lower postalimentary lipemia, higher fasting and postalimentary HDL-Chol, Apo AI and lower HL activity providing a lower CHD risk profile, as described in the literature, probably due in part to different levels of sex hormones (39).

Further studies should aim at better understanding the sex differences in lipemia regulation.

Acknowledgements

The excellent technical and statistical assistance provided by Miriam Danelon, Valéria Moda, Aparecida de Sousa and Helymar Machado is acknowledged, as well as the support from Dr Edna Nakandakare and the Laboratory of Lipids, Medical School, University of São Paulo. This work was supported in part by grants from the *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)*, *Fundo de Apoio ao Ensino e Pesquisa da Universidade de Campinas (FAEP)* and *Coordenadoria de Pessoal de Ensino Superior (CAPES)*.

References

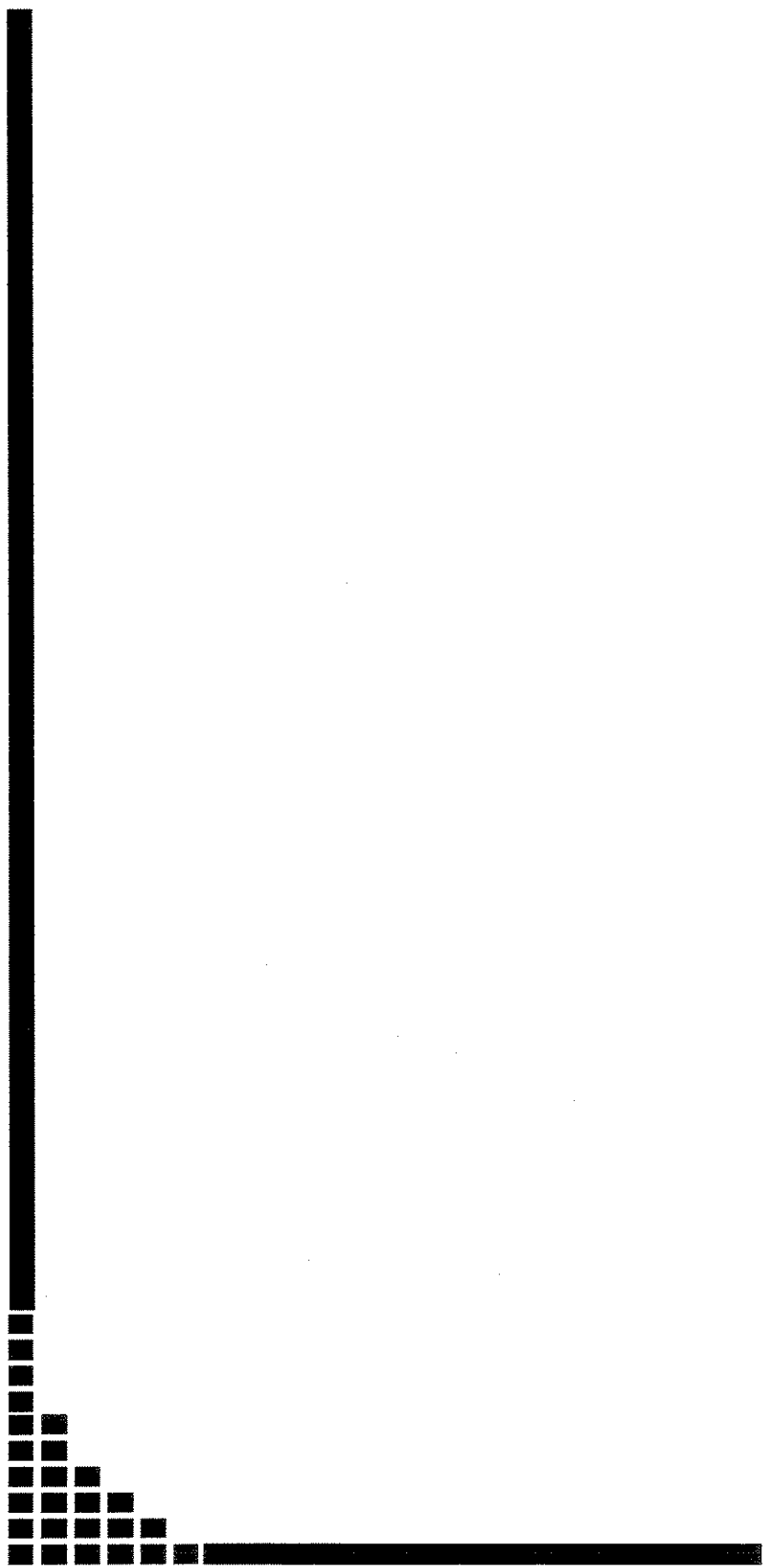
1. Kenneth CW and Cooper AD. Postprandial lipoprotein and atherosclerosis. *Frontiers in Bioscience* 2001; 6: d332-354.
2. Parks EJ. Recent findings in the study of postprandial lipemia. *Curr Atheroscler Rep* 2001; 3(6)-462-70.
3. Roche HM and Gibney MJ. The impact of postprandial lipemia in accelerating atherosclerosis. *J Cardiovasc Risk* 2000; 7(5): 317-42.
4. Zilversmit DB. Atherogenesis: postprandial phenomenon. *Circulation* 1979; 60:473-485.
5. Jensen MD. Gender differences in regional fatty acid metabolism before and after meal ingestion. *J Clin Invest* 1995; 96(5): 2297-303.
6. Lerner DJ and Kannel WB. Patterns of coronary heart disease morbidity and mortality in the sexes: a 26-year follow-up of the Framingham population. *Am Heart J* 1986; 111(2): 383-90.
7. Wingard DL, Suarez L, and Barrett-Connor E. The sex differential in mortality from all causes and ischemic heart disease. *Am J Epidemiol* 1983; 117: 165-172.
8. Walsh BW, Schiff I, Rosner B, Greenberg L, Ravnkar V, and Sacks FM. Effects of postmenopausal estrogen replacement on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins. *N Engl J Med* 1991; 325: 1196-1204.
9. Steinberg D, Witztum JL. Is the oxidative modification hypothesis relevant to human atherosclerosis? Do the antioxidant trials conducted to date refute the hypothesis? *Circulation* 2002; 105(17):2107-11.
10. Gilligan DM, Badar DM, Panza JA, Quyyumi AA, and Cannon RO, 3rd. Acute vascular effects of estrogen in postmenopausal women. *Circulation* 1994; 90: 786-791.

11. Horton TJ, Commerford SR, Pagliassotti MJ, Bessesen DH. Postprandial leg uptake of triglyceride is greater in women than in men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283(6):E1192-202.
12. Kovar J and Poledne R. Sex differences in the response of postprandial lipemia to a change from a low-fat low-cholesterol diet to a high-fat high-cholesterol diet. *Physiol Res* 2000; 49(2): 233-9.
13. Couillard C, Bergeron N, Prud'homme D, Bergeron J, Tremblay A, Bouchard C, Mauriège P, and Després J. Gender Difference in Postprandial Lipemia: Importance of Visceral Adipose Tissue Accumulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 2448-2455.
14. Halkes CJ, Castro Cabezas M, van Wijk JP, Erkelens DW. Gender differences in diurnal triglyceridemia in lean and overweight subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25(12):1767-74.
15. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;106:3143-421.
16. Ehnholm C and Kuusi T. Preparation, characterization and measurement of hepatic lipase. *Methods Enzymol* 1986;129:716-38.
17. Lagrost L. Determination of the mass concentration and the activity of the plasma cholesteryl ester transfer protein (CETP). *Methods Mol Biol*, 1998; 110: 231- 241.
18. Damen J, Regts J, and Scherphof, G. Transfer of [14C] phosphatidylcholine between liposomes and human plasma high density lipoprotein. Partial purification of a transfer-stimulating plasma factor using a rapid transfer assay. *Biochim Biophys Acta* 1982; 712(3): 444-52.

19. Emi M, Wu LL, Robertson MA, Myers RL, Hegele RA, Williams RR et al. Genotyping and sequence analysis of apolipoprotein E isoforms. *Genomics* 1988;3:373-9.
20. Hixson JE and Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res* 1990;31:545-548.
21. Gidlund M, Damasceno NR, Lindoso JA, Abdalla DS and Goto H. Monoclonal antibodies against low density lipoprotein with various degrees of oxidative modifications. *Braz J Med Biol Res* 1996;29:1625-8.
22. Carallo C, Irace C, Pujia A, De Franceschi MS, Crescenzo A, Motti C et al. Evaluation of common carotid hemodynamic forces. Relations with wall thickening. *Hypertension* 1999;34: 217-21.
23. Espeland MA, Tang R, Terry JG, Davis DH, Mercuri M, Crouse JR 3rd. Associations of risk factors with segment-specific intima-medial thickness of the extracranial carotid artery. *Stroke* 1999;30:1047-55.
24. Carr MC, Hokanson JE, Zambon A, et al. The contribution of intraabdominal fat to gender differences in hepatic lipase activity and low/high density lipoprotein heterogeneity. *J Clin Endocrinol Metab* 200; 86(6):2831-7.
25. Georgopoulos A and Rosengard AM. Abnormalities in the metabolism of postprandial and fasting triglyceride-rich lipoprotein subfractions in normal and insulin-dependent diabetic subjects: effects of sex. *Metabolism* 1989; 38(8): 781-9.
26. Cohn JS, Mcnamara JR, Cohn SD, Ordovas JM, Schaefer EJ. Postprandial plasma lipoproteins change in human subjects of different ages. *J Lipid Res* 1988; 29: 469-479.
27. Cohn JS, Johnson EJ, Millar JS, Cohn SD, Milne RW, Marcel YL, et al. Contribution of apoB-48 and apoB-100 triglyceride-rich lipoproteins (TRL) to postprandial increases in the plasma concentration of TRL triglycerides and retinyl esters. *J Lipid Res* 1993; 34: 2033-2040.

28. McKeigue PM, Laws A, Chen YD, Marmot MG, and Reaven GM. Relation of plasma triglyceride and apoB levels to insulin-mediated suppression of nonesterified fatty acids. Possible explanation for sex differences in lipoprotein pattern. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1993; 13: 1187-1192.
29. Huttunen JK, Ehnholm C, Kekki M, and Nikkila EA. Post-heparin plasma lipoprotein lipase and hepatic lipase in normal subjects and in patients with hypertriglyceridaemia: correlations to sex, age and various parameters of triglyceride metabolism. *Clin Sci Mol Med* 1976; 50(4): 249-60.
30. Havel RJ. Postprandial hyperlipidemia and remnant lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1994; 5(2):102-9.
31. Mittendorfer B, Horowitz JF, Klein S. Gender differences in lipid and glucose kinetics during short-term fasting. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 281(6):E1333-9.
32. Mahley RW, Weisgraber, and Farese RV, Jr. Disorders of Metabolism. In: Larsen, P.R.; Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS. *Williams Textbook of Endocrinology*. 10th ed. New York: Saunders, 2002:1642-1705.
33. Mittendorfer B, Patterson BW, Klein S, Sidossis LS. VLDL-triglyceride kinetics during hyperglycemia-hyperinsulinemia: effects of sex and obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 284(4):E708-15.
34. Criqui MH, Heiss G, Cohn R, Cowan LD, Suchindran CM, Bangdiwala S, Kritchevsky S, Jacobs DR, O'Grady HK, and Davis CE. Plasma Triglyceride Level and Mortality from Coronary Heart Disease. *N Engl J Med* 1993; 328: 1220-1225.
35. Lemieux S, Despres JP, Moorjani S, Nadeau A, Theriault G, Prud'homme D, Tremblay A, Bouchard C, and Lupien PJ. Are gender differences in cardiovascular disease risk factors explained by the level of visceral adipose tissue? *Diabetologia* 1994; 37(8): 757-64.
36. Brown SA, Hutchinson R, Morrisett J, Boerwinkle E, Davis CE, Gotto AM, Jr, and Patsch W. Plasma lipid, lipoprotein cholesterol, and apoprotein distributions in selected US communities. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1993; 13: 1139-1158.

37. Wofford JL, Kahl FR, Howard GR, McKinney WM, Toole JF, and Crouse JR, 3d. Relation of extent of extracranial carotid artery atherosclerosis as measured by B-mode ultrasound to the extent of coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1991; 11: 1786-1794.
38. Craven TE, Ryu JE, Espeland MA, Kahl FR, McKinney WM, Toole JF, McMahan MR, Thompson CJ, Heiss G, and Crouse JR, 3d. Evaluation of the associations between carotid artery atherosclerosis and coronary artery stenosis. A case-control study. *Circulation* 1990; 82: 1230-1242.
39. Godsland IF, Wynn V, Crook D, and Miller NE. Sex, plasma lipoproteins, and atherosclerosis: prevailing assumptions and outstanding questions. *Am Heart J* 1987; 114(6): 1467-503.



***DISCUSSÃO
GERAL***

Estes estudos confirmam dados da literatura que mostram que o período pós-alimentar é pró-aterogênico. Várias correlações significativas ocorreram com biomarcadores da doença sub-clínica como a espessura da camada intima-média das artérias carótidas, marcador de aterosclerose precoce, e títulos de auto anticorpos anti-LDL oxidada, biomarcador de oxidação de LDL.

Em populações de adultos jovens saudáveis, dentro da grande variabilidade da resposta lipêmica a uma dieta rica em gordura, identificaram-se fenótipos de resposta precoce e tardia utilizando-se os seguintes critérios: tempo até o pico na curva de resposta de TAG, magnitude da lipemia, dos tempos e dos picos de TAG, o número de picos, o tempo até a resposta inicial e o tempo de retorno ao basal. Seus respectivos potenciais aterogênicos foram avaliados. Os sujeitos com resposta precoce foram definidos por somente um pico sendo o tempo até o pico de TAG em 2 ou 4h, resposta inicial de TAG em 2h, retorno aos níveis basais 6 e 8h. Os tardios caracterizaram-se por um pico de TAG em 6 ou 8h, resposta inicial de TAG em 2 ou 6h e retorno aos níveis basais acima de 8h.

Em sujeitos com resposta lipêmica tardia, 17% do total dos casos estudados apresentou um padrão bifásico, com dois picos de TAG: em 2 e 6 h. Este padrão foi descrito em outros estudos (FIELDING, 1996; MATTES, 2002). O primeiro pico de TAG nestes sujeitos poderia ser devido a estoques de QM (de refeições anteriores) nos enterócitos ou nos vasos linfáticos que são liberados lentamente na circulação (MATTES, 2002). Outro estudo propõe que o primeiro pico seja resultado da ingestão da dieta oferecida e o segundo, na 6ª hora, seria explicado pela elevada produção de VLDL e a remoção preferencial dos QM pelos receptores hepáticos no estado pós-alimentar (ROBINS, 1989). O tempo de residência das partículas ricas em TAG aumentado, em contraste com o da resposta precoce, gera a oxidação das VLDL e LDL, estimulando o processo inflamatório com formação de anti-LDL oxidada e placas ateromatosas na parede arterial (HOLLANDER, 1977; MAZZONE, 1987).

Partindo-se do princípio de que as respostas são consonantes com as características absorptivas e metabólicas dos indivíduos, procurou-se mecanismos para explicar a relação entre o aumento da lipemia na resposta tardia e sua aterogenicidade.

No grupo tardio, os níveis de HDL-COL foram menores 16% do que no grupo precoce. A reduzida concentração de HDL-COL neste pode estar relacionada ao aumento da aterogênese pela redução da atividade da proteína de transferência de colesterol ester, que altera a eficiência do transporte reverso de colesterol. Também esta redução associa-se menores funções anti-aterogênica, profibrinolítica ou antitrombogênica, levando a um maior risco para o desenvolvimento da aterosclerose (GORDON, 1989; SPIEKER, 2004).

A ausência de resposta da CETP no grupo bifásico durante o período pós-alimentar pode favorecer o acúmulo de lipoproteínas ricas em TAG. Quando a atividade da CETP é reduzida, a transferência do colesterol esterificado das HDL para outras frações lipoprotéicas também se reduz, formando partículas de HDL maiores e com conteúdo maior de lipídeos em seu núcleo. Em adição, a depuração das lipoproteínas ricas em TAG é reduzida. Estes dados estão de acordo maiores concentrações de TAG na 6ª e 8ª horas nos grupo tardio. O mecanismo de redução da atividade da CETP na resposta bifásica não está esclarecido, mas pode parcialmente ser explicada pela redução da concentração da HDL-COL e pela modificação química do *pool* de lipoproteínas doadoras.

No presente estudo, o fenótipo tardio apresentou redução (77%) na concentração de insulina no período pós-alimentar, no pico de TAG. Esta resposta severamente diminuída pode representar a consequência metabólica de refeições prévias com regular proximidade entre si e com efeito sinérgico. Em concordância com esta hipótese foi verificado um aumento de 26% na atividade da lipoproteína lipase no jejum nas respostas tardias, refletindo um possível efeito da refeição anterior. Especula-se que a similar concentração de TAG entre os grupos precoce e tardio poderia refletir uma lipólise aumentada no grupo tardio.

Com relação ao jejum, o grupo precoce apresentou um aumento de AGL somente na 8ª h; no tardio ocorreu redução na 4ª hora e aumento na 8ª h. O grupo precoce mostrou maior concentração de AGL na 4ª h e menor no pico de TAG do que os grupos tardio e bifásico.

A diminuição da concentração de AGL pode ser devida à maior captação pelos tecidos ou por hiperresponsividade à insulina. A diminuição da lipólise pós-alimentar por redução da LPL pode ser também especulada. Portanto, a redução da concentração da

insulina pós-alimentar nas respostas tardias favoreceria a mobilização de ácidos graxos a partir do tecido adiposo, com aumento da produção hepática de VLDL e diminuição da lipólise das lipoproteínas ricas em TAG.

No fenótipo tardio as correlações positivas mais relevantes foram as da lipemia pós-alimentar com a espessura da camada intima-média das carótidas, biomarcador de aterosclerose precoce, e desta última com autoanticorpos contra epítomos de LDL oxidada, um biomarcador de aterosclerose.

Em sujeitos com resposta lipêmica precoce foram observadas correlações negativas e significativas entre a concentração de triacilglicerol em 2 e 4h, AUC e AUIC de triacilglicerol e AUIC AGL com autoanticorpos anti-LDL oxidada pós-alimentar. A correlação negativa com anti-LDL oxidada sugere uma função protetora deste anticorpo na resposta precoce (FUKUMOTO, 2000). Neste fenótipo outras correlações negativas ocorreram com LPL e HDL-colesterol e positiva com insulina.

O outro estudo compreendido nesta tese, explorou a modulação da lipemia pelos sexos.

A diferença entre os sexos na lipemia pós-alimentar tem sido demonstrada por vários autores, os homens apresentando maior resposta de TAG (GEORGOPOULOS, 1989; COHN, 1988).

Neste estudo, com relação à mulher, o homem apresentou maior lipemia pós-alimentar de TAG plasmático explicada pela maior concentração de colesterol e TAG das lipoproteínas ricas em TAG. Uma maior produção de lipoproteínas ricas em TAG de origem intestinal e hepática (COHN, 1993) no homem pode ser uma das explicações para este aumento. A produção de VLDL é menor em mulheres, pois o homem reduz mais o AGL circulante como descrito após um teste oral de tolerância à glicose (McKEIGUE, 1993). Outras possíveis explicações para o aumento da lipemia podem ser: prejuízo do catabolismo das lipoproteínas ricas em TAG pela LPL e pelo fígado (HUTTUNEN, 1976). A LPL não foi diferente entre os sexos.

As concentrações de insulina foram similares nos sexos no jejum, e nas mulheres maiores níveis foram encontrados no pico de TAG após a refeição. A insulina modula a lipemia nos dois sexos. Age por aumento da lipogênese e supressão da lipólise no tecido adiposo, com redução do *pool* de AGL circulantes, aumento da produção de VLDL pelo fígado proveniente dos AGL e ativando a LPL. O *pool* de AGL reflete a atividade da insulina e também modifica a atividade da enzima LPL. Como descrito anteriormente, mulheres têm maior concentração de AGL (MITTENDORFER, 2001). Pode-se postular que os homens deste estudo apresentaram um perfil de resistência insulínica pós-alimentar, indicado pela menor concentração de insulina no pico de TAG e maior concentração de AGL na 6ª h, quando comparados às mulheres. Os homens apresentaram maior área incremental sob a curva de AGL e maior taxa de aquisição de AGL (JENSEN, 1995). O grande fluxo de AGL em homens pode interferir com o processo lipolítico de formação de remanescentes (MAHLEY, 2002). Um mecanismo que explica estes achados pode ser pela atividade da lipase hormônio sensível presente nas células viscerais gordurosas dos homens, com um conseqüente aumento no fluxo plasmático de AGL para o fígado e conseqüente produção de VLDL (MITTENDORFER, 2003). Ao contrário, as mulheres mostraram uma reduzida resposta pós-alimentar em AGL, consistente com uma maior eficiência da sua extração do plasma.

A atividade da CETP foi similar entre os sexos nos períodos de jejum e pós-alimentar, mas nos homens a resposta pós-alimentar foi maior. Este achado pode refletir o aumento da quantidade de lipoproteínas ricas em TAG, dos aceptores de CE no processo mediado pela CETP no período pós-alimentar dos homens. A menor resposta nas mulheres por outro lado refletiria a diminuição dos aceptores de CE.

Os resultados mostraram que as mulheres apresentam uma regulação mais complexa da lipemia pós-alimentar do que nos homens, com diversas variáveis explicativas. Os fatores circunferência da cintura, AGL, FL, insulina e a atividade da CETP são determinantes positivos na variação da lipemia pós-alimentar das mulheres. Também são reguladores negativos nas mulheres, a idade e LPL. Nos homens, os reguladores são insulina e PL, ambos positivos, e observados também para as mulheres.

A fosfolipidemia foi um forte determinante da lipemia em ambos os sexos. PL são os maiores componentes lipídicos da HDL e isto indiretamente indica uma regulação pela HDL. Existe uma relação inversa entre TAG e HDL-COL, pois HDL é parcialmente produzido no plasma através da hidrólise das lipoproteínas ricas em TAG (CRIQUI, 1993).

A LPL neste estudo modula somente a lipemia nas mulheres, mostrando um estado de resistência relativa à lipólise nos homens.

Somente nas mulheres a circunferência da cintura, um indicador de obesidade visceral, explica a lipemia. Alguns estudos têm mostrado que a gordura visceral regula a lipemia pós-alimentar (COUILLARD, 1999; LEMIEUX, 1994). O aumento do acúmulo de gordura visceral pode contribuir na deficiência da depuração da gordura dietética. Também, o maior prejuízo do metabolismo dos AGL pós-alimentares e a redução na capacidade do estoque lipídico no tecido adiposo subcutâneo podem ser responsáveis por esta associação (COUILLARD, 1999).

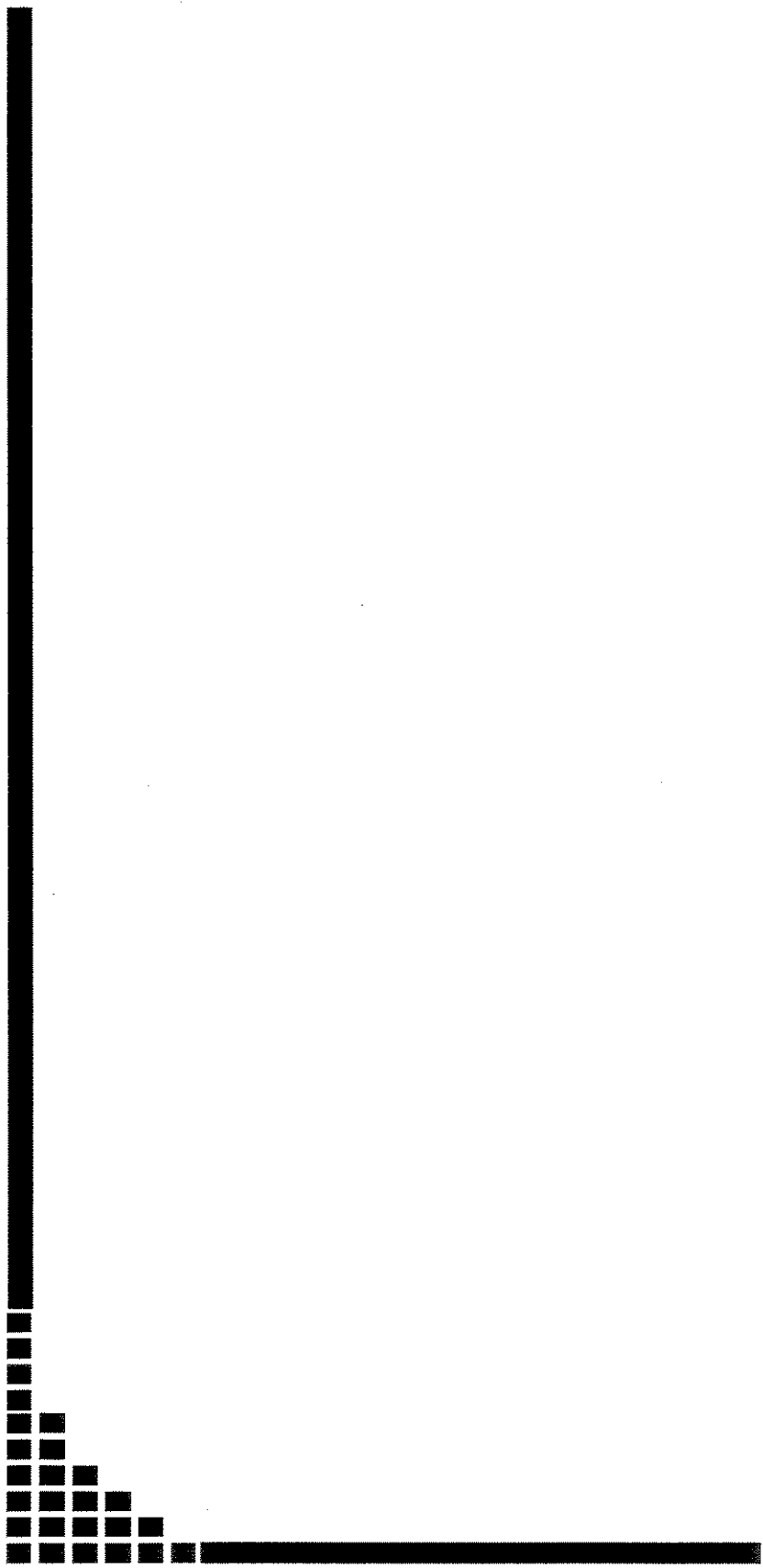
A lipemia aumenta com a idade (BROWN, 1993) e este modulador foi encontrado neste estudo somente nas mulheres.

A medida da espessura íntima-média das artérias carótidas por ultrassonografia é utilizada para mensurar estágios precoces da doença aterosclerótica. As mulheres apresentaram correlações positivas desta medida com LDL-COL, CL, PL e negativa com a atividade da CETP. Nos homens, a espessura da camada íntima-média das artérias carótidas associou-se com TAG pós-alimentar, autoanticorpos anti-LDL oxidada e negativamente com AGL. Os homens têm espessura da camada íntima-média das artérias carótidas maior em relação às mulheres, indicando aterosclerose precoce.

Os títulos de autoanticorpo anti-LDL oxidada de jejum e pós-alimentar foram similares entre os sexos. Somente no sexo masculino demonstrou correlação negativa destes autoanticorpos com marcadores de TAG, sugerindo maior formação de imunocomplexos com LDL oxidada.

Concluindo, neste estudo demonstrou-se em primeiro lugar que a aterogenicidade no período pós-alimentar pode ocorrer em indivíduos saudáveis com resposta pós-alimentar tardia, situação agravada na resposta bifásica. Estes padrões ocorrem por razões provavelmente absorptivas e evocam mudanças metabólicas que explicam a maior lipemia e conseqüentemente o maior risco de doença arterial coronariana.

Em segundo lugar descrevemos que a regulação da lipemia difere entre os sexos e ocorre por fatores antropométricos e metabólicos, sendo muito mais complexa na mulher, o que provavelmente dá origem ao perfil cardiovascular mais protetor com relação ao do homem, bem caracterizado neste estudo.

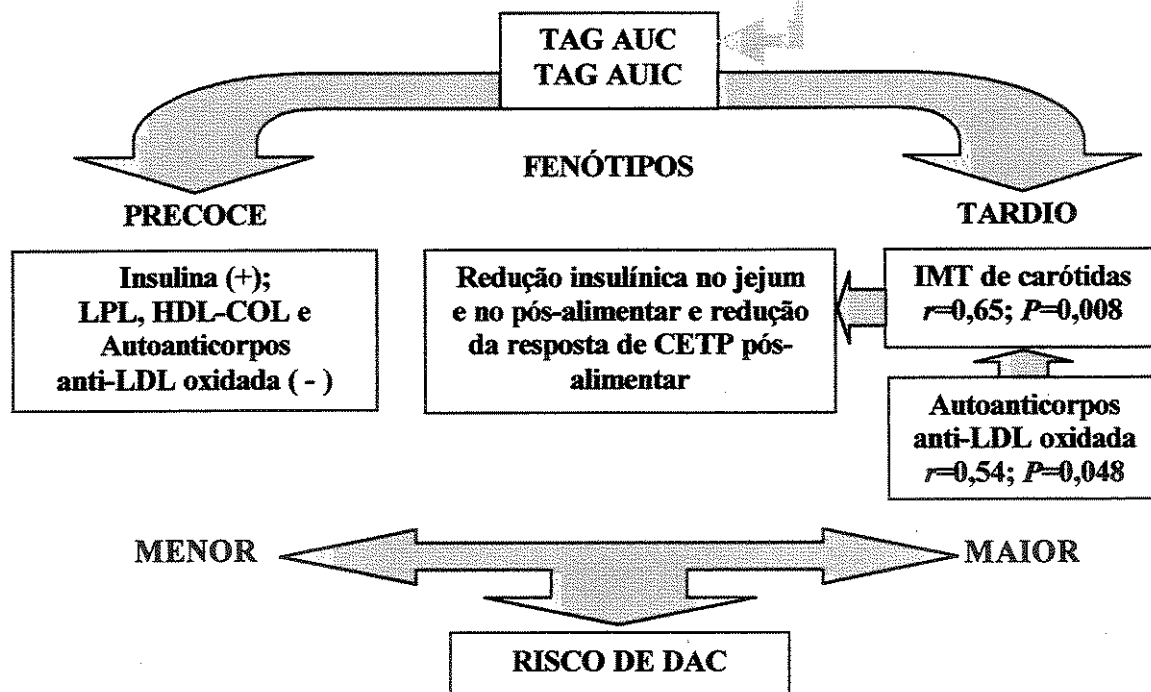
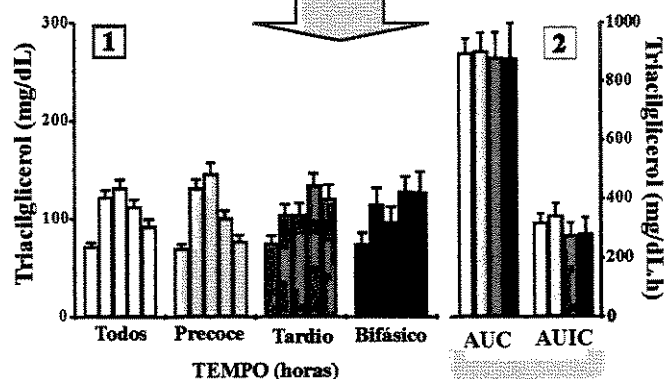


CONCLUSÕES GERAIS

TRABALHO CIENTÍFICO 1

60 participantes: 18-45 anos

Dieta rica em gordura → 40g de gordura/m² de superfície corporal



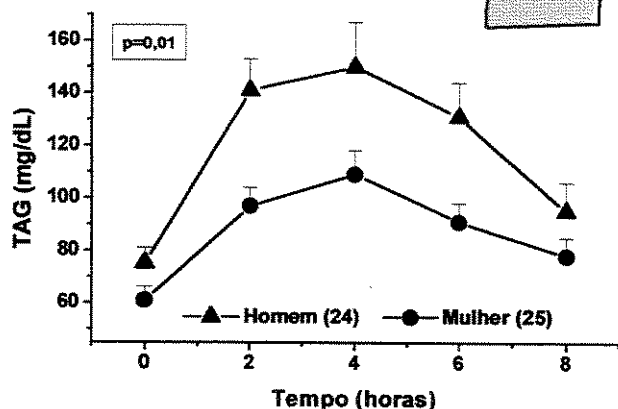
CONCLUSÃO:

A associação de biomarcadores da aterosclerose, a espessura íntima-média das carótidas e os anticorpos séricos contra epítopos de LDL oxidada, com a lipemia pós-alimentar no fenótipo tardio, pode ser explicada por um estado de resistência insulínica pós-alimentar e prejuízo no transporte reverso de colesterol encontrados nestes sujeitos.

TRABALHO CIENTÍFICO 2

49 participantes: 19-45 anos

Dieta rica em gordura → 40g de gordura/m² de superfície corporal



Em ♂ :
maiores TAG AUC e TAG AUIC
e menor TAG TFR

E estes parâmetros
correlacionam-se com
autoanticorpos anti-LDL
oxidada, respectivamente:
 $r = -0,42, -0,44, -0,52$; $P \leq 0,050$

EIM de carótidas
 $r = 0,48$, $P = 0,03$

POR QUE?

Entre os sexos há diferentes fatores explicando a lipemia:

MULHERES: ↑ risco de DAC

- Idade
- Circunferência de cintura
- Insulina
- Fosfolípides
- Ácidos graxos livres
- CETP
- LPL

HOMENS: ↓ risco de DAC

- Insulina
- Fosfolípides

Além disso em HOMENS:

- ↓ HDL-colesterol e Apo AI
- ↑ Pressão arterial sistólica, EIM de carótidas, LH e TAG

CONCLUSÃO:

A regulação metabólica mais complexa das concentrações de triacilgliceróis na mulher, com relação ao homem, pode explicar, em parte, a maior lipemia no sexo masculino. Estas respostas associadas à redução plasmática de HDL-colesterol e aos aumentos de triacilgliceróis no jejum, da espessura da camada íntima-média das carótidas e da pressão arterial sanguínea, conferem ao homem maior risco para o desenvolvimento da doença arterial coronariana.



***REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS***

ABBASI, F.; MCLAUGHLIN, T.; LAMENDOLA, C.; YENI-KOMSHIAN, H.; TANAKA, A.; WANG, T. Fasting remnant lipoprotein cholesterol and triglyceride concentrations are elevated in nondiabetic, insulin-resistant, female volunteers. **J Clin Endocrinol Metab**, 84: 3903-3906, 1999.

AHN, Y.I.; KAMBOH, M.I.; HAMMAN, R.F.; COLE, S.A.; FERRELL, R.E. Two DNA polymorphisms in the lipoprotein lipase gene and their associations with factors related to cardiovascular disease. **J Lipid Res**, 34: 421-428, 1993.

AKOH, C.C. Structure Lipids. In: AKOH, C.C.; MIN, D.B. **Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology**. New York: Marceel Dekker, 1998. p. 699-728. AUSTIN, M.A. Plasma triglyceride as a risk factor for cardiovascular disease. **Can J Cardiol**, 14 (Supl B): 14B-17B, 1998.

BEISIEGEL U.; WEBER, W.; BENGTSSON-OLIVECRONA, G. Lipoprotein lipase enhances the binding of chylomicrons to low density lipoprotein receptor-related protein. **Proc Natl Acad Sci USA**, 88(19): 8342-6, 1991.

BERGERON, N.; HAVEL, R.J. Prolonged postprandial responses of lipids and apolipoproteins in triglyceride-rich lipoproteins of individuals expressing an apolipoprotein ϵ allele. **J Clin Invest**, 97: 65-72, 1996.

BJÖRKEGREN, J.; PACKARD, C.J.; HANSTEM, A.; BEDFORD, D.; CASLAKE, M.; SHEPHERD, J.; STEWART, P.; KARPE, F. Accumulation of large very density lipoproteins in plasma during intravenous infusion of a chylomicrons-like triglycerides emulsion reflect competition for a common lipolytic pathway. **J Lipid Res**, 37: 76-86, 1996.

BJÖRKEGREN, J.; HAMSTEN, A.; MILNE, R.W.; KARPE, F. Alterations of VLDL composition during alimentary lipemia. **J Lipid Res**, 38: 301 - 314, 1997.

BJÖRKEGREN, J.; KARPE, F.; MILENE, R.W.; HANISTAI, A. Differences in apolipoproteins and lipid composition between humans chylomicrons remnants and very low density lipoproteins isolated from fasting and postprandial plasma. **J Lipid Res**, 39: 1412-1420, 1998.

- BJÖRKEGREN, J.; SILVEIRA, A.; BOQUIST, S.; TANG, R.; KARPE, F.; BOND, M.G.; DE FAIRE, U.; HAMSTEN, A. Postprandial enrichment of remnant lipoproteins with ApoC-I in healthy normolipidemic men with early asymptomatic atherosclerosis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 22: 1470-1474, 2002.
- BOROVICKA, J.; SCHWIZER, W.; METTRAUX, C.; KREISS, C.; REMY, B.; ASAL, K.; JANSEN, J.B.; DOUCHET, I.; VERGER, R.; FRIED, M. Regulation of gastric and pancreatic lipase secretion by CCK and cholinergic mechanisms in humans. **Am J Physiol**, 273(2 Pt 1): G374-80, 1997.
- BOQUIST, S.; RUOTOLO, G.; TANG, R.; BJÖRKEGREN, J.; GENE BOND M.; DE FAIRE, U.; KARPE, F.; HAMSTEN, A. Alimentary lipemia, postprandial triglyceride-rich lipoproteins, and common carotid intima-media thickness in healthy, middle-aged men. **Circulation**, 100:723-728, 1999.
- BOSNER, M.S.; LANGE, L.G.; STENSON, W.F.; OSTLUND, R.E. Jr. Percent cholesterol absorption in normal women and men quantified with dual stable isotopic tracers and negative ion mass spectrometry. **J Lipid Res**, 40(2): 302-308, 1999.
- BRACCO, U. Effect of triglyceride structure on fat absorption. **Am J Clin Nutr**, 60(6 Suppl): 1002S-1009S, 1994.
- BRODY, T. Lipids. In: BRODY, T. **Nutritional biochemistry**. Berkeley: Academic Press, 1994. p. 249-294.
- BROOM, J. Função do trato gastrointestinal na digestão e absorção dos alimentos. In: BAYNES, J. **Bioquímica Médica**. 1ª ed. São Paulo: Editora Manole Ltda, 2000. p. 97-108.
- BROUSSEAU, M.E. ATP-binding cassette transporter A1, fatty acids, and cholesterol absorption. **Curr Opin Lipidol**, 14(1): 35-40, 2003.
- BROWN, S.A.; HUTCHINSON, R.; MORRISETT, J.; BOERWINKLE, E.; DAVIS, C.E.; GOTTO, A.M. Jr.; PATSCH, W. Plasma lipid, lipoprotein cholesterol, and apoprotein distributions in selected US communities. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. **Arterioscler Thromb**, 13(8): 1139-58, 1993.

BRUNZELL, J.D.; HAZZARD, W.R.; PORTE, D. Jr.; BIERMAN, E.L. Evidence for a common, saturable, triglyceride removal mechanism for chylomicrons and very low density lipoproteins in man. **J Clin Invest**, 52(7): 1578-85, 1973.

CABEZAS, M.C.; ERKELENS, D.W.; KOCK, L.A.; DE BRUIN, T.W. Postprandial apolipoprotein B100 and B48 metabolism in familial combined hyperlipidaemia before and after reduction of fasting plasma triglycerides. **Eur J Clin Invest**, 24(10): 669-78, 1994.

CALLOW J.; SUMMERS, L.K.; BRADSHAW, H.; FRAYN, K.N. Changes in LDL particle composition after the consumption of meals containing different amounts and types of fat. **Am J Clin Nutr.**, 76(2):345-50, 2002.

CAMEJO, G; HURT-CAMEJO E. Considerações físico químicas sobre as lipoproteínas e seu metabolismo. In: Carmena, R. & Ordovas, J.M. **Hiperlipidemias: clínica e tratamento**. São Paulo, Ed. Americana de Publicações, 2000. p.1-32.

CARR, M.C.; HOKANSON, J.E.; ZAMBON, A.; DEEB, S.S.; BARRETT, P.H.; PURNELL, J.Q.; BRUNZELL, J.D. The contribution of intraabdominal fat to gender differences in hepatic lipase activity and low/high density lipoprotein heterogeneity. **J Clin Endocrinol Metab**, 86(6): 2831-7, 2001.

CARALLO, C.; IRACE, C.; PUJIA, A.; DE FRANCESCHI, M.S.; CRESCENZO, A.; MOTTI, C.; CORTESE, C.; MATTIOLI, P.L.; GNASSO, A. Evaluation of common carotid hemodynamic forces. Relations with wall thickening. **Hypertension**, 34(2): 217-21, 1999.

CARTWRIGHT, I.J.; HIGGINS, J.A. Direct evidence for a two-step assembly of ApoB48-containing lipoproteins in the lumen of the smooth endoplasmic reticulum of rabbit enterocytes. **J Biol Chem**, 276(51):48048-57, 2001.

CHUNG, B.H.; DORAN, S.; LIANG, P.; OSTERLUND, L.; CHO, B.H.; OSTER, R.A.; DARNELL, B.; FRANKLIN, F. Alcohol-mediated enhancement of postprandial lipemia: a contributing factor to an increase in plasma HDL and a decrease in risk of cardiovascular disease. **Am J Clin Nutr**, 78(3): 391-9, 2003.

COHN, J.S.; MCNAMARA, J.R.; COHN, S.D.; ORDOVAS, J.M.; SCHAEFER, E.J. Postprandial plasma lipoproteins change in human subjects of different ages. **J Lipid Res**, 29: 469-479, 1988.

COHN, J.S.; JOHNSON, E.J.; MILLAR, J.S.; COHN, S.D.; MILNE, R.W.; MARCEL, Y.L.; RUSSELL, R.M.; SCHAEFER, E.J. Contribution of apoB-48 and apoB-100 triglyceride-rich lipoproteins (TRL) to postprandial increases in the plasma concentration of TRL triglycerides and retinyl esters. **J Lipid Res**, 34: 2033-2040, 1993.

COUILLARD, C.; BERGERON, N.; PRUD'HOMME, D.; BERGERON, J.; TREMBLAY, A.; BOUCHARD, C.; MAURIÈGE, P. AND DESPRÉS, J. Gender Difference in Postprandial Lipemia: Importance of Visceral Adipose Tissue Accumulation. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 19: 2448-2455, 1999.

CONSENSO BRASILEIRO DE DISLIPIDEMIAS (III) . Detecção, avaliação e tratamento. **Arq Br Cardiol**, 77(supl. III), 2001.

COSTET, P.; LUO, Y.; WANG, N.; TALL, A.R. Sterol-dependent transactivation of the ABC1 promoter by the liver X receptor/retinoid X receptor. **J Biol Chem**, 275(36): 28240-5, 2000.

CRIQUI, M.H.; HEISS, G.; COHN, R.; COWAN, L.D. *et al.* Plasma Triglyceride Level and Mortality from Coronary Heart Disease. **N Engl J Med**, 328: 1220-1225, 1993.

CUMMINGS, M.H.; WATTS, G.F.; UMPLEBY, A.M.; HENNESSY, T.R.; NAOUMOVA, R.; SLAVIN, B.M.; THOMPSON, G.R.; SONKSEN, P.H. Increased hepatic secretion of very-low-density lipoprotein apolipoprotein B-100 in NIDDM. **Diabetologia**, 38(8): 959-67, 1995.

DALLONGEVILLE, J.; TIRET, L.; VISVIKIS, S.; O'REILLY, D.S.; SAAVA, M.; TSITOURIS, G.; ROSSENEU, M.; DEBACKER, G.; HUMPHRIES, S.E.; BEISIEGEL, U. Effect of apo E phenotype on plasma postprandial triglyceride levels in young male adults with and without a familial history of myocardial infarction: the EARS II study. European Atherosclerosis Research Study. **Atherosclerosis**, 145(2): 381-88, 1999.

DAMEN, J.; REGTS, J.; SCHERPHOF, G. Transfer of [^{14}C] phosphatidylcholine between liposomes and human plasma high density lipoprotein. Partial purification of a transfer-stimulating plasma factor using a rapid transfer assay. **Biochim Biophys Acta**, 712(3): 444-52, 1982.

DART, A.M.; COOPER, B. Independent effects of apo E phenotype and plasma triglyceride on lipoprotein particle sizes in the fasting and postprandial states. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 19: 2465-2473, 1999.

DAWSON, P.A.; RUDEL, L.L. Intestinal cholesterol absorption. Review. **Curr Opin Lipidol**, 10(4):315-20, 1999.

DENKE, M.A.; FOX, M.M.; SCHULTE M.C. Short-term dietary calcium fortification increases fecal saturated fat content and reduces serum lipids in men. **J Nutr**, 123(6):1047-53, 1993.

DE MAN, F.H.; CABEZAS, M.C.; VAN BARLINGEN, H.H.; ERKELENS, D.W.; DE BRUIN, T.W. Triglyceride-rich lipoproteins in non-insulin-dependent diabetes mellitus: post-prandial metabolism and relation to premature atherosclerosis. **Eur J Clin Invest**, 26(2): 89-108, 1996.

DESPRÉS, J.P.; LAMARCHE, B.; MAURIEGE, P.; CANTIN, B.; LUPIEN, P.J.; DAGENAIS, G.R. Risk factors for ischaemic heart disease: is it time to measure insulin? **Eur Heart J**, 17(10): 1453-4, 1996.

DESPRÉS, J.P.; COUILLARD, C.; GAGNON, J.; BERGERON, J.; LEON, A.S.; RAO, D.C.; SKINNER, J.S.; WILMORE, J.H.; BOUCHARD, C. Race, visceral adipose tissue, plasma lipids, and lipoprotein lipase activity in men and women: the Health, Risk Factors, Exercise Training, and Genetics (HERITAGE) family study. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 20(8): 1932-8, 2000.

DESPRÉS, J.P. Health consequences of visceral obesity. **Ann Med**, 33(8): 534-41, 2001.

DIETSCHY, J.M.; TURLEY, S.D.; SPADY, D.K. Role of the liver in the maintenance of cholesterol and low density lipoprotein homeostasis in different animal species, including humans. **J Lipid Res**, 34:1637-1659, 1993.

DOMINICZAK, M.H. Lipídeos e lipoproteínas. In: Baynes, J. **Bioquímica Médica**. 1ª ed. São Paulo, Editora Manole Ltda. 2000. p.201-216.

DOOLITTLE, M.H.; WONG, H.; DAVIS, R.C.; SCHOTZ, M.C. Synthesis of hepatic lipase in liver and extrahepatic tissues. **J Lipid Res**, 28: 1326-1334, 1987.

EHNHOLM, C.; KUUSI, T. Preparation, characterization and measurement of hepatic lipase. **Methods Enzymol**, 129: 716 - 738, 1986.

EMI, M.; WU, L.L.; ROBERTSON, M.A.; MYERS, R.L.; HEGELE, R.A.; WILLIAMS, R.R.; WHITE, R.; LALOUEL, J.M. Genotyping and sequence analysis of apolipoprotein E isoforms. **Genomics**, 3(4): 373 - 9, 1988.

ERLANSON, C. Purification, properties, and substrate specificity of a carboxylesterase in pancreatic juice. **Scand J Gastroenterol**, 10(4):401-8, 1975.

ERKELENS, D.W. Insulin resistance syndrome and type 2 diabetes mellitus. **Am J Cardiol**, 88(7B): 38J-42J, 2001.

ESPELAND, M.A.; TANG, R.; TERRY, J.G.; DAVIS, D.H.; MERCURI, M.; CROUSE, J.R. Associations of risk factors with segment-specific intimal-medial thickness of the extracranial carotid artery. **Stroke**, 30(5): 1047-55, 1999.

EVANS, V.; KASTELEIN, J.J. Lipoprotein lipase deficiency--rare or common? **Cardiovasc Drugs Ther**, 16(4):283-7, 2002.

FIELDING, B.A.; CALLOW, J.; OWEN, R.M.; SAMRA, J.S.; MATTHEWS, D.R. AND FRAYN, K.N. Postprandial lipemia: the origin of an early peak studied by specific dietary fatty acid intake during sequential meals. **Am J Clinical Nutrition**, 63:36-41, 1996.

FRIEDEWALD W. T.; LEVY, R. Y.; FREDRICKSON, D. S. estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol without the use of preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, 18: 499 - 502, 1972.

FRIKKE-SCHMIDT, R. Context-dependent and invariant associations between APOE genotype and levels of lipoproteins and risk of ischemic heart disease: a review. **Scand J Clin Lab Invest** 233 (supl):3-25, 2000.

FUKUMOTO, M.; SHOJI, T.; EMOTO, M.; KAWAGISHI, T.; OKUNO, Y.; NISHIZAWA, Y. Antibodies against oxidized LDL and carotid artery intima-media thickness in a healthy population. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 20(3): 703-7, 2000.

FUNADA, J.; SEKIYA, M.; OTANI, T.; WATANABE, K.; SATO, M.; AKUTSU, H. The close relationship between postprandial remnant metabolism and insulin resistance. **Atherosclerosis**, 172(1):151-4, 2004.

GARCIA, R.C; OLIVEIRA, H.C.F. Fisiologia das Lipoproteínas. In: Quintão E. **Colesterol e Aterosclerose**. Rio de Janeiro. Editora Qualitymark, 1-30, 1992.

GARIEPY, J.; SALOMON, J.; DENARIÉ, N.; LASKRI, F.; MÉGNIEN, J.L., LEVENSON, J.; SIMON, A. Sex and topographic differences in associations between large-artery wall thickness and coronary risk profile in a French working cohort : The AXA Study. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 18: 584-590, 1998.

GEORGOPOULOS, A. AND ROSENGARD, A.M. Abnormalities in the metabolism of postprandial and fasting triglyceride-rich lipoprotein subfractions in normal and insulin-dependent diabetic subjects: effects of sex. **Metabolism**, 38(8): 781-9, 1989.

GIDLUND; DAMASCENO, N.R.; LINDOSO, J.A.; ABDALLA, D.S.; GOTO, H. Monoclonal antibodies against low density lipoprotein with various degrees of oxidative modifications. **Braz J Med Biol Res**, 29(12): 1625-28, 1996.

GILL, J.M.R.; HARDMAN, A.E. Postprandial lipemia: effects of exercise and restriction of energy intake compared. **Am J Clinical Nutrition**, 71: 465-471, 2000.

GOLDBERG, J.; MERKEL, M. Lipoprotein lipase: physiology, biochemistry, and molecular biology. **Front Biosci**, 6: D388-405, 2001.

GORDON, D.J.; RIFKIND, B.M. High-density lipoprotein--the clinical implications of recent studies. **N Engl J Méd**, 321(19):1311-6, 1989.

GRANFONE, A.; CAMPOS, H.; MCNAMARA, J.R.; SCHAEFER, M.M.; LAMON-FAVA, S.; ORDOVAS, J.M.; SCHAEFER, E.J. Effects of estrogen replacement on plasma lipoproteins and apolipoproteins in postmenopausal, dyslipidemic women. **Metabolism**, 41(11): 1193-8, 1992.

- GROOP, L.C.; SALORANTA, C.; SHANK, M.; BONADONNA, R.C.; FERRANNINI, E.; DEFRONZO, R.A. The role of free fatty acid metabolism in the pathogenesis of insulin resistance in obesity and noninsulin-dependent diabetes mellitus. **J Clin Endocrinol Metab**, 72: 96-107, 1991.
- GROOT, P.H.; VAN STIPHOUT, W.A.; KRAUSS, X.H.; JANSEN, H.; VAN TOL, A.; VAN RAMSHORST, E.; CHIN-ON, S.; HOFMAN, A.; CRESSWELL, S.R.; HAVEKES, L. Postprandial lipoprotein metabolism in normolipidemic men with and without coronary artery disease. **Arterioscler Thromb**, 11(3): 653-62, 1991.
- HALUSKA, B.A.; FATHI, R.; JEFFRIESS, L.; LEANO, R.; CARLIER, S.G.; MARWICK, T.H. Noninvasive tests for arterial structure, function, and compliance: do they identify risk or diagnose disease? **J Am Soc Echocardiogr**, 17(2): 195-202, 2004.
- HAMOSH, M. A review. Fat digestion in the newborn: role of lingual lipase and preduodenal digestion. **Pediatr Res**, 13(5 Pt 1):615-22, 1979.
- HARBIS, A.; DEFOORT, C.; NARBONNE, H.; JUHEL, C.; SENFT, M.; LATGÉ, C. Acute hyperinsulinism modulates plasma apolipoprotein B-48 triglyceride-rich lipoproteins in healthy subjects during the postprandial period. **Diabetes**, 50: 462-469, 2001.
- HARDMAN, A.E.; LAWRENCE, J.E.M.; HERD, S.L. Postprandial lipemia in endurance-trained people during a short interruption to training. **J Appl Physiol**, 84: 1895-1901, 1998.
- HAUSER, H.; DYER, J.H.; NANDY, A.; VEGA, M.A.; WERDER, M.; BIELIAUSKAITE, E. Identification of a receptor mediating absorption of dietary cholesterol in the intestine. **Biochemistry**, 37(51): 1743-50, 1998.
- HAVEL, R.J.; EDER, H.A.; GRAGDON, J.H. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. **J Clin Invest**, 34: 1345 - 53, 1955.
- HAVEL, R.J.; KANE, J.P.; KASHYAP, M.L. Interchange of apolipoproteins between chylomicrons and high density lipoproteins during alimentary lipemia in man. **J Clin. Invest**, 52: 32-38, 1973.

- HAVEL, R.J. Remnant lipoproteins as therapeutic targets. **Curr Opin Lipidol**, 11(6): 615-20, 2000.
- HEINECKE, J.W. Mechanisms of oxidative damage of low density lipoprotein in human atherosclerosis. **Curr Opin Lipidol**, 8(5): 268-74, 1997.
- HEINECKE, J. W. Mass spectrometric quantification of amino acid oxidation products in proteins: insights into pathways that promote LDL oxidation in the human artery wall. **FASEB J**, 13: 1113-1120, 1999.
- HENDERSON, A.R. Gastric, pancreatic and intestinal function. In: Wilson, J.D.; Foster, D.W.; Kronenberg, W.m.; Larsen, P.R., eds. **Williams Textbook of Endocrinology**. 9th edição. Editora Saunders, 1998. p.1271-1327.
- HERD, S.L.; LAWRENCE, J.E.M.; MALKOVA, D.; MURPHY, M.H.; MASTANA, S.; HARDMAN, A.E. Postprandial lipemia in young men and women of contrasting training status. **J Appl Physiol**, 89: 2049-2056, 2000.
- HIXSON, J.E.; VERNIER, D.T. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. **J Lipid Res**, 31: 545-548, 1990.
- HOCKEY, K.J.; ANDERSON, R.A.; COOK, V.R.; HANTGAN, R.R.; WEINBERG, R.B. Effect of the apolipoprotein A-IV Q360H polymorphism on postprandial plasma triglyceride clearance. **J Lipid Res**, 42: 211-217, 2001.
- HOKANSON, J.E.; AUSTIN, M.A. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. **J Cardiovasc Risk**, 3(2): 213-9, 1996.
- HOLLANDER, W. Role of arterial lipoproteins in the formation of the fibrous plaque. **Adv Exp Med Biol**, 82: 793-9, 1977.
- HORTON, T.J.; COMMERFORD, S.R.; PAGLIASSOTTI, M.J.; BESSESEN, D.H. Postprandial leg uptake of triglyceride is greater in women than in men. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 283: 1192-1202, 2002.

HUFF, M.W. Dietary cholesterol, cholesterol absorption, postprandial lipemia and atherosclerosis. **Can J Clin Pharmacol**, 10 Suppl A: 26A-32A, 2003.

HUSSAIN, M.M. A proposed model for the assembly of chylomicrons. **Atherosclerosis**, 148(1): 1-15, 2000.

HUTTUNEN, J.K.; EHNHOLM, C.; KEKKI, M. AND NIKKILA, E.A. Post-heparin plasma lipoprotein lipase and hepatic lipase in normal subjects and in patients with hypertriglyceridaemia: correlations to sex, age and various parameters of triglyceride metabolism. **Clin Sci Mol Med**, 50(4): 249-60, 1976.

IQBAL, J.; ANWAR, K.; HUSSAIN, M.M. Multiple, independently regulated pathways of cholesterol transport across the intestinal epithelial cells. **J Biol Chem**, 278(34): 31610-20, 2003.

JAMES, A.P.; WATTS, G.F.; BARRETT, P.H.; SMITH, D.; PAL, S.; CHAN, D.C.; MAMO, J.C. Effect of weight loss on postprandial lipemia and low-density lipoprotein receptor binding in overweight men. **Metabolism**, 52(2): 136-41, 2003.

JANSSEN, I.; HEYMSFIELD, S.B.; ALLISON, D.B.; KOTLER, D.P.; ROSS, R. Body mass index and waist circumference independently contribute to the prediction of nonabdominal, abdominal subcutaneous, and visceral fat. **Am J Clinical Nutrition**, 75: 683 – 688, 2002.

JENSEN, M.D. Gender differences in regional fatty acid metabolism before and after meal ingestion. **J Clin Invest**, 96(5): 2297-303, 1995.

KARPE, F.; STEINER, G.; OLIVECRONA, T.; CARLSON, L.A.; HANSTEN, A. Metabolism of triglycerides- rich lipoproteins during alimentary lipemia. **J Clin Invest**, 91:748-759, 1993.

KARPE, F.; OLIVECRONA, T.; HAMSTEN, A.; HULTIN, M. Chylomicron / chylomicron remnant turnover in humans: evidence for margination of chylomicrons and poor conversion of larger to smaller chylomicron remnants. **J Lipid Res**, 38: 949-961, 1997.

KARPE, F.; DE FAIRE, U.; MERCURI, M.; BOND, M.G.; HELLENIOUS, M.L.; HAMSTEN, A. Magnitude of alimentary lipemia is related to intima-media thickness of the common carotid artery in middle-aged men. **Atherosclerosis**, 141(2): 307-14, 1998.

KARPE, F.; HELLENIOUS, M.L.; HAMSTEN, A. Differences in postprandial concentrations of very-low-density lipoprotein and chylomicron remnants between normotriglyceridemic and hypertriglyceridemic men with and without coronary heart disease. **Metabolism**, 48(3): 301-7, 1999.

KARPE, F. Postprandial lipoprotein metabolism and atherosclerosis. **Int Med**, 246: 341-355, 1999.

KARPE, F.; BOQUIST, S.; TANG, R.; BOND, G.M.; DE FAIRE, U.; HAMSTEN, A. Remnant lipoproteins are related to intima-media thickness of the carotid artery independently of LDL cholesterol and plasma triglycerides. **J Lipid Res**, 42: 17-21, 2001.

KARPE, F. Postprandial lipemia - effect of lipid-lowering drugs. **Atherosclerosis**, 3(supl 1): 41-6, 2002.

KATSANOS, C.S.; GRANDJEAN, P.W.; MOFFATT, R. Effects of low and moderate exercise intensity on postprandial lipemia and postheparin plasma lipoprotein lipase activity in physically active men. **J Appl Physiol**, 96:181-188, 2004.

KISSEBAH, A.H.; ALFARSI, S.; EVANS, D.J. AND ADAMS, P.W. Integrated regulation of very low density lipoprotein triglyceride and apolipoprotein-B kinetics in non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Diabetes**, 31: 217-225, 1982.

KNIGHT, B.L. ATP-binding cassette transporter A1: regulation of cholesterol efflux. **Biochem Soc Trans**, 32(Pt 1): 124-7, 2004.

KOLOVOU, G.; DASKALOVA, D.; MIKHAILIDIS, D.P. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. **Angiology**, 54(1):59-71, 2003.

KOSCHINSKY, M.L.; MARCOVINA, S.M. Structure-function relationships in apolipoprotein(a): insights into lipoprotein(a) assembly and pathogenicity. **Curr Opin Lipidol**, 15(2): 167-74, 2004.

- KRAPP, A.; AHLE, S.; KERSTING, S.; HUA, Y.; KNESER, K.; NIELSEN, M.; GLIEMANN, J.; BEISIEGEL, U. Hepatic lipase mediates the uptake of chylomicrons and beta-VLDL into cells via the LDL receptor-related protein (LRP). *J Lipid Res*, 37: 926-936, 1996.
- KRATZ, M.; WAHRBURG, U.; VON ECKARDSTEIN, A.; EZEH, B.; ASSMANN, G.; KRONENBERG, F. Dietary mono- and polyunsaturated fatty acids similarly increase plasma apolipoprotein A-IV concentrations in healthy men and women. *J Nutr*, 133(6):1821-5, 2003.
- KWITEROVICH, P.O. JR. The metabolic pathways of high-density lipoprotein, low-density lipoprotein, and triglycerides: a current review. *Am J Cardiol*, 86(12A): 5L-10L, 2000.
- LABODA, H.M.; GLICK, J.M.; PHILLIPS, M.C. Hydrolysis of lipid monolayers and the substrate specificity of hepatic lipase. *Biochim Biophys Acta*, 876(2): 233-42, 1986.
- LAGROST, L.; DESRUMAUX, C.; MASSON, D.; DECKERT, V.; GAMBERT, P. Structure and function of the plasma phospholipid transfer protein. *Curr Opin Lipidol*, 9(3): 203-9, 1998.
- LAGROST, L. Determination of the mass concentration and the activity of the plasma cholesteryl ester transfer protein (CETP). *Methods Mol Biol*, 110: 231-241, 1998.
- LASSEL, T.S.; GUERIN, M.; AUBOIRON, S.; GUY-GRAND, B.; CHAPMAN, M.J. Evidence for a cholesteryl ester donor activity of LDL particles during alimentary lipemia in normolipidemic subjects. *Atherosclerosis*, 147: 41-48, 1999.
- LEMIEUX, S.; PRUD'HOMME, D.; BOUCHARD, C.; TREMBLAY, A.; DESPRES, J.P. Sex differences in the relation of visceral adipose tissue accumulation to total body fatness. *Am J Clin Nutr*, 58(4): 463-37, 1993.
- LEMIEUX, S.; DESPRES, J.P.; MOORJANI, S.; NADEAU, A.; THERIAULT, G.; PRUD'HOMME, D.; TREMBLAY, A.; BOUCHARD, C. AND LUPIEN, P.J. Are gender differences in cardiovascular disease risk factors explained by the level of visceral adipose tissue? *Diabetologia*, 37(8): 757-64, 1994.

LEMIEUX, I.; PASCOT, A.; LAMARCHE, B.; PRUD'HOMME, D.; NADEAU, A.; BERGERON, J.; DESPRES, J.P. Is the gender difference in LDL size explained by the metabolic complications of visceral obesity? **Eur J Clin Invest**, 32(12): 909-17, 2002.

LERNER, D.J.; KANNEL, W.B. Patterns of coronary heart disease morbidity and mortality in the sexes: a 26-year follow-up of the Framingham population. **Am Heart J**, 111(2): 383-90, 1986.

LEWIS, G.F.; O'MEARA, N.M.; SOLTYS, P.A.; BLACKMAN, J.D.; IVERIUS, P.H.; DRUETZLER, A.F.; GETZ, G.S.; POLONSKY, K.S. Postprandial lipoprotein metabolism in normal and obese subjects: comparison after the vitamin A fat-loading test. **J Clin Endocrinol Metab**, 71(4): 1041-50, 1990.

LEWIS, G.F. Diabetic dyslipidemia: a case for aggressive intervention in the absence of clinical trial and cost effectiveness data. **Can J Cardiol**, 11(Supl C): 24C-28C, 1995.

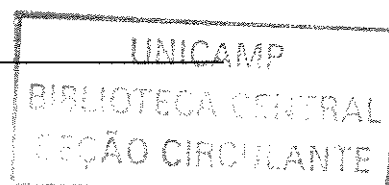
LI, Z.; MCNAMARA, J.R.; FRUCHART, J.C.; LUC, G.; BARD, J.M.; ORDOVAS, J.M.; WILSON, P.W.; SCHAEFER, E.J. Effects of gender and menopausal status on plasma lipoprotein subspecies and particle sizes. **J Lipid Res**, 37(9):1886-96, 1996.

LIE, J.; DE CROM, R.; JAUHIAINEN, M.; VAN GENT, T.; VAN HAPEREN, R.; SCHEEK, L.; JANSEN, H.; EHNHOLM, C.; VAN TOL, A. Evaluation of phospholipid transfer protein and cholesteryl ester transfer protein as contributors to the generation of pre beta-high-density lipoproteins. **Biochem J**, 360(2): 379-85, 2001.

LOWE, M.E. The triglyceride lipases of the pancreas. **J Lipid Res**, 43(12): 2007-16, 2002.

MAHLEY, R.W.; WEISGRABER, K.H.; FARESE JR, R.V. Disorders of Lipid Metabolism. In: LARSEN, P.R.; KRONENBERG, H.M.; MELMED, S.; POLONSKY, K.S. **Williams Textbook of Endocrinology**. 10th ed. New York: Saunders, 2002. p.1642-1705.

MAMO, J.C.; YU, K.C.; ELSEGOOD, C.L.; SMITH, P.; VINE, O.; GENNAT, H.C.; VAEVONDIN, M.; PROCTOR, S.D. Is atherosclerosis exclusively a postprandial phenomenon? **Clin Exper Pharmacol Physiol**, 24: 288-293, 1997.



- MAMO, J.C.; PROCTOR, S.D.; SMITH, D. Retention of chylomicron remnants by arterial tissue; importance of an efficient clearance mechanism from plasma. *Atherosclerosis*, 141(Supl 1): S63-9, 1998.
- MALLOY, M.J. AND KANE, J.P. A risk factor for atherosclerosis: triglyceride-rich lipoproteins. *Adv Intern Med*, 47: 111-36, 2001.
- MARÍN, C.; LÓPEZ-MIRANDA, J.; GÓMEZ, P.; PAZ, E.; PÉREZ-MARTÍNEZ, P.; FUENTES, F.; JIMÉNEZ-PEREPÉREZ, J.A.; ORDOVÁS, J.M.; PÉREZ-JIMÉNEZ, F. Effects of the human apolipoprotein A-I promoter G-A mutation on postprandial lipoprotein metabolism. *Am J Clin Nutr*, 76: 319- 325, 2002.
- MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. Regulação integrada do metabolismo. In: MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. *Bioquímica básica*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 296-302.
- MARTINS, I.J.; MORTIMER, B.C.; MILLER, J.; REDGRAVE, T.G. Effects of particle size and number on the plasma clearance of chylomicrons and remnants. *J Lipid Res*, 37: 2696- 2705, 1996.
- MASUMI, A.; TANAKA, A.; OGITA K.; SEKINE, M.; NUMANO, F.; NUMANO, F. AND REAVEN, G.M. Relationship between hyperinsulinemia and remnant lipoprotein concentrations in patients with impaired glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab*, 85: 3557-3560, 2000.
- MATTES, R.D. Oral Fat Exposure Increases the First Phase Triacylglycerol Concentration Due to Release of Stored Lipid in Humans. *J Nutr*, 132:3656-3662, 2002.
- MATTHEWS, J.N.S.; ALTMAN, D.G.; CAMPBELL, M.J.; ROYSTON, P. Analysis of serial measurements in medical research. *Brit Med J*, 300: 230 - 236, 1990.
- MAZZONE, T.; LOPEZ, C. AND BERGSTRAESSER, L. Modification of very low density lipoproteins leads to macrophage scavenger receptor uptake and cholesteryl ester deposition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 7:191-196, 1987.
- McGARRY, J.D. Metabolismo de lipídeos I: utilização e armazenamento de energia na forma de lipídeos. In: DELVIN, T.M. *Manual de bioquímica com correlações clínicas*. 4ª ed. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 1997. p.299-327.

McKEIGUE, P.M.; LAWS, A.; CHEN, Y.D.; MARMOT, M.G. AND REAVEN, G.M. Relation of plasma triglyceride and apoB levels to insulin-mediated suppression of nonesterified fatty acids. Possible explanation for sex differences in lipoprotein pattern. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 13: 1187-1192, 1993.

McNAMARA, J.R.; SHAH, P.K.; NAKAJIMA, K.; CUPPLES, L.A.; WILSON, P.W.; ORDOVAS, J.M.; SCHAEFER, E.J. Remnant-like particle (RLP) cholesterol is an independent cardiovascular disease risk factor in women: results from the Framingham Heart Study. **Atherosclerosis**, 154(1): 229-36, 2001.

MEIGS, J.B.; D'AGOSTINO, R.B.S.R.; WILSON, P.W.; CUPPLES, L.A.; NATHAN, D.M.; SINGER, D.E. Risk variable clustering in the insulin resistance syndrome. The Framingham Offspring Study. **Diabetes**, 46(10): 1594-600, 1997.

MEKKI, N.; CHARBONNIER, M.; BOREL, P.; LEONARDI, J.; JUHEL, C.; PORTUGAL, H.; LAIRON, D. Butter differs from olive oil and sunflower oil in its effects on postprandial lipemia and triacylglycerol-rich lipoproteins after single mixed meals in healthy young men. **J Nutr**, 132(12): 3642-49, 2002.

MIETTINEN, T.A.; KESANIEMI, Y.A. Cholesterol absorption: regulation of cholesterol synthesis and elimination and within-population variations of serum cholesterol levels. **Am J Clin Nutr**, 49(4):629-35, 1989.

MILED, N.; CANAAN, S.; DUPUIS, L.; ROUSSEL, A.; RIVIERE, M.; CARRIERE, F.; DE CARO, A.; CABBILLAU, C.; VERGER, R. Digestive lipases: from three-dimensional structure to physiology. **Biochimie**, 82(11): 973-86, 2000.

MILLAR, J.S.; LICHTENSTEIN, A.H.; CUCHEL, M.; DOLNIKOWSKI, G.G.; HACHEY, D.L.; COHN, J.S.; SCHAEFER EJ. Impact of age on the metabolism of VLDL, IDL, and LDL apolipoprotein B- 100 in men. **J Lipid Res**, 36: 1155-1167, 1995.

MILLER, M.; TETER, B.; DOLINAR, C.; GEORGOPOULOS, A. An NECP II diet reduces postprandial triacylglycerol in normocholesterolemic adults. **J Nutr**, 128:582-586, 1998.

- MITTENDORFER, B.; HOROWITZ, J.F.; KLEIN, S. Gender differences in lipid and glucose kinetics during short-term fasting. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 281(6):E1333-9, 2001.
- MITTENDORFER, B.; PATTERSON, B.W.; KLEIN, S.; SIDOSSIS, L.S. VLDL-triglyceride kinetics during hyperglycemia-hyperinsulinemia: effects of sex and obesity. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 284(4):E708-15, 2003.
- MONTGOMERY, D.C.; PECK, E.A. **Introduction to Linear Regression Analysis**. New York: John Wiley e Sons, 1982.
- MU, H.C.E. The digestion of dietary triacylglycerols. **Prog Lipid Res**, 43(2):105-33, 2004.
- NAKAJIMA, K.; SAITO, T.; TAMURA, A.; SUZUKI, M.; NAKANO, T.; ADACHI, M.; TANAKA, A.; TADA, N.; NAKAMURA, H.; CAMPOS, E. Cholesterol in remnant-like lipoproteins in human serum using monoclonal anti apo B-100 and anti apo A-I immunoaffinity mixed gels. **Clin Chim Acta**, 223(1-2): 53-71, 1993.
- NASLUND, E.; BOGEFORS, J.; SKOGAR, S.; GRYBACK, P.; JACOBSSON, H.; HOLST, J.J.; HELLSTROM, P.M. GLP-1 slows solid gastric emptying and inhibits insulin, glucagon, and PYY release in humans. **Am J Physiol**, 277(3 Pt 2):R910-6, 1999.
- National Cholesterol Education Program (NECP) - Executive Summary of the Third Report of the NCEP Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. **JAMA**, 285(19):2486-2497, 2001.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Recommendation dietary allowances**. 10th ed., Washington, DC, National Academy Press, 1989.
- NAUCK, M.; MARZ, W.; JARAUSCH, J.; COBBAERT, C.; SAGERS, A.; BERNARD, D.; DELANGHE, J.; HONAUER, G.; LEHMANN, P.; OESTRICH, E.; VON ECKARDSTEIN, A.; WALCH, S.; WIELAND, H.; ASSMANN, G. Multicenter evaluation of a homogeneous assay for HDL-cholesterol without sample pretreatment. **Clin Chem.**, 43(9):1622-9, 1997.

- NIKKILA, M.; SOLAKIVI, T.; LEHTIMAKI, T.; KOIVULA, T.; LAIPPALA, P.; ASTROM, B. Postprandial plasma lipoprotein changes in relation to apolipoprotein E phenotypes and low density lipoprotein size in men with and without coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 106(2): 149-57, 1994.
- O'KEEFE, S.F. Nomenclature and Classification of Lipids. In: AKOH, C.C.; MIN, D.B. **Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology**. New York: Marceel Dekker, 1998. p. 1-36.
- OKUHIRA, K.; TSUJITA, M.; YAMAUCHI, Y.; ABE-DOHMAE, S.; KATO, K.; HANDA, T.; YOKOYAMA, S. Potential involvement of dissociated apoA-I in the ABCA1-dependent cellular lipid release by HDL. *J Lipid Res*, 45: 645-652, 2004.
- ONG, J.M.; KERN, P.A. Effect of feeding and obesity on lipoprotein lipase activity, immunoreactive protein, and messenger RNA levels in human adipose tissue. *J Clin Invest*, 84(1): 305-11, 1989.
- ORAM, J.F.; LAWN, R.M. ABCA1. The gatekeeper for eliminating excess tissue cholesterol. *J Lipid Res*, 42(8):1173-9, 2001.
- ORTH, M.; WAHL, S.; HANISCH, M.; FRIEDRICH, I.; WIELAND, H.; LULEY, C. Clearance of postprandial lipoproteins in normolipemics: role of the apolipoprotein E phenotype. *Biochim Biophys Acta*, 1303(1): 22-30, 1996.
- OSTLUND, R.E. JR.; BOSNER, M.S.; STENSON, W.F. Cholesterol absorption efficiency declines at moderate dietary doses in normal human subjects. *J Lipid Res*, 40(8):1453-8, 1999.
- OSTOS, M.A.; LOPEZ-MIRANDA, J.; ORDOVAS, J.M.; MARIN, C.; BLANCO, A.; CASTRO, P.; LOPEZ-SEGURA, F.; JIMENEZ-PEREPEPEREZ, J.; PEREZ-JIMENEZ, F. Dietary fat clearance is modulated by genetic variation in apolipoprotein A-IV gene locus. *J Lipid Res*, 39: 2493-2500, 1998.
- PATSCH, J.R.; KARLIN, J.B.; SCOTT, L.W.; SMITH, L.C.; GOTTO JR, A.M. Inverse relationship between blood levels of high density lipoprotein subfraction 2 and magnitude of postprandial lipemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 80(5): 1449-53, 1983.

PATSCH, J.R.; PRASAD, S.; GOTTO A.M. Jr; BENGTSSON-OLIVECRONA, G. Postprandial lipemia. A key for the conversion of high density lipoprotein2 into high density lipoprotein3 by hepatic lipase. **J Clin Invest**, 74(6): 2017-23, 1984.

PATSCH, J.R.; PRASAD, S.; GOTTO A.M. Jr; PATSCH W. High density lipoprotein2. Relationship of the plasma levels of this lipoprotein species to its composition, to the magnitude of postprandial lipemia, and to the activities of lipoprotein lipase and hepatic lipase. **J Clin Invest**, 80(2): 341-7, 1987.

PATSCH, J.R.; MIESENBOCK, G.; HOPFERWIESER, T.; MUHLBERGER, V.; KNAPP, E.; DUNN, J.K.; GOTTO, A.M. Jr; PATSCH, W. Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. Studies in the postprandial state. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 12: 1336-1345, 1992.

PETITT, D.S.; ARNGRÍMSSON, S.Á.; CURETON, K.J. Effect of resistance exercise on postprandial lipemia. **J Appl Physiol**, 94: 694-700, 2003.

PETITT, D.S.; CURETON, K.J. Effects of prior exercise on postprandial lipemia: A quantitative review. **Metabolism**, 52(4): 418-24, 2003.

PHILLIPS, N.R.; WATERS, D.; HAVEL, R.J. Plasma lipoproteins and progression of coronary artery disease evaluated by angiography and clinical events. **Circulation**, 88: 2462-2470, 1993.

PLAT, J.; MENSINK, R.P. Increased intestinal ABCA1 expression contributes to the decrease in cholesterol absorption after plant stanol consumption. **FASEB J**, 16(10):1248-53, 2002.

PROCTOR, S.D.; MAMO, J.C. Retention of fluorescent-labelled chylomicron remnants within the intima of the arterial wall--evidence that plaque cholesterol may be derived from post-prandial lipoproteins. **Eur J Clin Invest**, 28(6): 497-503, 1998.

PROCTOR, S.D.; VINE, D.F.; MAMO, J.C. Arterial retention of apolipoprotein B(48)- and B(100)-containing lipoproteins in atherogenesis. **Curr Opin Lipidol**, 13(5): 461-70, 2002.

PRUNET-DELOCHE, V.; SASSOLAS, A.; DALLINGA-THIE, G.M.; BERTHEZÈNE, F.; PONSIN, G.; MOULIN, P. Alteration in lipoprotein lipase activity bound to triglyceride-rich lipoproteins in the postprandial state in type 2 diabetes. **J Lipid Res**, 45: 859-865, 2004.

RAMIREZ, M.; AMATE, L.; GIL, A. Absorption and distribution of dietary fatty acids from different sources. **Early Hum Dev**, 65(Supl):S95-S101, 2001.

RAPP, J.H.; LESPINE, A.; HAMILTON, R.L.; COLYVAS, N.; CHAUMETON, A.H.; TWEEDIE-HARDMAN, J.; KOTITE, L.; KUNITAKE, S.T.; HAVEL, R.J.; KANE, J.P. Triglyceride-rich lipoproteins isolated by selected-affinity anti- apolipoprotein B immunosorption from human atherosclerotic plaque. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 14: 1767-1774, 1994.

REAVEN, G.M.; CHEN, Y.D. Role of abnormal free fatty acid metabolism in the development of non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Am J Med**, 28; 85(5A): 106-12, 1988.

REIBER, I.; MEZO, I.; KALINA, A.; PALOS, G.; ROMICS, L.; CSASZAR, A. Postprandial triglyceride levels in familial combined hyperlipidemia. The role of apolipoprotein E and lipoprotein lipase polymorphisms. **J Nutr Biochem**, 14(7): 394-400, 2003.

REPA, J.J.; TURLEY, S.D.; LOBACCARO, J.A.; MEDINA, J.; LI, L.; LUSTIG, K.; SHAN, B.; HEYMAN, R.A.; DIETSCHY, J.M.; MANGELSDORF, D.J. Regulation of absorption and ABC1-mediated efflux of cholesterol by RXR heterodimers. **Science**, 1;289(5484):1524-9, 2000.

RIFAI, N.; WARNICK, G.R.; MCNAMARA, J.R.; BELCHER, J.D.; GRINSTEAD, G.F.; FRANTZ JR, I.D. Measurement of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in serum: a status Report. **Clin Chem**, 38: 150-160, 1992.

RIFAI, N.; BACHARIK, P.P.; ALBERS, J.J. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R., eds. **Tietz Textbook of Clinical Chemistry**. 3ª edição. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999. p. 809-861.

RIGOTTI, A.; MIETTINEN, H.E.; KRIEGER, M. The role of the high-density lipoprotein receptor SR-BI in the lipid metabolism of endocrine and other tissues. **Endocr Rev**, 24:357-87, 2003.

RISSER, T.R.; REAVEN, G.M.; REAVEN, E.P. Intestinal contribution to secretion of very low density lipoproteins into plasma. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 234: 277-281, 1978.

RITSCH, A.; DREXEL, H.; AMANN, F.W.; PFEIFHOFER, C.; PATSCH, J.R. Deficiency of cholesteryl ester transfer protein. Description of the molecular defect and the dissociation of cholesteryl ester and triglyceride transport in plasma. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 17(12):3433-41, 1997.

ROBINS, S.J.; FASULO, J.M.; ROBINS, V.F. AND PATTON, G.M. Response of serum triglycerides of endogenous origin to the administration of triglyceride-rich lipid particles. **Am J Physiol - Legacy Content**, 257(6 Pt 1):E860-5, 1989.

ROCHE, H.M.; GIBNEY, M.J. The impact of postprandial lipemia in accelerating atherothrombosis. **J Cardiovasc Risk**, 7: 317-324, 2000.

ROMANSKI, S.A.; NELSON, R.M. JENSEN, M.D. Meal fatty acid uptake in adipose tissue: gender effects in nonobese humans. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 279(2): E455-62, 2000.

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

ROSS, R. Atherosclerosis - An Inflammatory Disease. **N Engl J Med**, 340: 115-126, 1999.

RYU, J.E.; CRAVEN, T.E.; MACARTHUR, R.D.; HINSON, W.H.; BOND, M.G.; HAGAMAN, A.P.; CROUSE, J.R. 3rd. Relationship of intraabdominal fat as measured by magnetic resonance imaging to postprandial lipemia in middle-aged subjects. **Am J Clin Nutr**, 60: 586-591, 1994.

SALAZAR, L.A.; MELO, C.E.; CAVALLI, S.A.; HINUY, H.M.; HIRATA, M.H.; HIRATA, R.D.C. Micrométodo para extração de DNA genômico útil no diagnóstico molecular da hipercolesterolemia familiar. **RBAC**, 33: 111-116, 2001.

SCHAEFER, E.J.; WETZEL, M.G.; BENGTSSON, G.; SCOW, R.O.; BREWER, H.B. Jr.; OLIVECRONA, T. Transfer of human lymph chylomicron constituents to other lipoprotein density fractions during in vitro lipolysis. **J Lipid Res**, 23(9): 1259-73, 1982.

SCHIRRA, J.; HOUCK, P.; WANK, U.; ARNOLD, R.; GOKE, B.; KATSCHINSKI, M. Effects of glucagon-like peptide-1(7-36)amide on antro-pyloro-duodenal motility in the interdigestive state and with duodenal lipid perfusion in humans. **Gut**, 46(5):622-31, 2000.

SCHNEIDER, J.; LIESENFELD, A.; MORDASINI, R.; SCHUBOTZ, R.; ZOFEL, P.; KUBEL, F.; VANDRE-PLOZZITZKA, C.; KAFFARNIK, H. Lipoprotein fractions, lipoprotein lipase and hepatic triglyceride lipase during short-term and long-term uptake of ethanol in healthy subjects. **Atherosclerosis**, 57(2-3): 281-91, 1985.

SEJDA, T.; KOVAR, J. PITHA, J.; CIFKOVA, R.; SVANDOVA, E.; POLEDNE, R. The effect of an acute fat load on endothelial function after different dietary regimens in young healthy volunteers. **Physiol Res**, 51(1): 99-105, 2002.

SHAFI, S.; BRADY, S.E.; BENSADOUN, A.; HAVEL, R.J. Role of hepatic lipase in the uptake and processing of chylomicron remnants in rat liver. **J Lipid Res**, 35: 709-720, 1994.

SHARRETT, A.R.; CHAMBLESS, L.E.; HEISS, G.; PATOU, S.C.; PETSCH, W. Association of postprandial triglyceride and retinyl palmitate responses with asymptomatic carotid artery atherosclerosis in middle age man and women. **Arterioscler Tromb Vasc Biol**, 15:2122-2129, 1995.

SIMONS, P.C.; ALGRA, A.; BOTS, M.L.; GROBBEE, D.E.; VAN DER GRAAF, Y. Common carotid intima-media thickness and arterial stiffness: indicators of cardiovascular risk in high-risk patients. The SMART Study (Second Manifestations of arterial disease). **Circulation**, 100(9): 951-7, 1999.

SKOUMAS, J.; PITSAVOS, C.; PANAGIOTAKOS, D.B.; CHRYSOHOU, C.; ZEIMBEKIS, A.; PAPAIOANNOU, I.; TOUTOUZA, M.; TOUTOUZAS, P.; STEFANADIS, C. Physical activity, high density lipoprotein cholesterol and other lipids levels, in men and women from the ATTICA study. **Lipids Health Dis**, 12; 2(1): 3, 2003.

- SMALL, DM. Surface and Bulk interactions of lipids and water with a classification of biologically active lipids based on these interactions. *Fed Proc*, 29: 1320-1326, 1970.
- SPIEKER, L.E.; RUSCHITZKA, F.; LUSCHER, T.F. AND NOLL, G. HDL and inflammation in atherosclerosis. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord*, 4(1):51-7, 2004.
- SPOSITO, A.C.; MARANHAO, R.C.; VINAGRE, C.G.; SANTOS, R.D.; RAMIRES, J.A. Effects of etofibrate upon the metabolism of chylomicron-like emulsions in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 154(2): 455-61, 2001.
- SPOSITO, A.C.; SANTOS, R.D.; AMANCIO, R.F.; RAMIRES, J.A.; CHAPMAN, M.J.; MARANHAO, R.C. Atorvastatin enhances the plasma clearance of chylomicron-like emulsions in subjects with atherogenic dyslipidemia: relevance to the in vivo metabolism of triglyceride-rich lipoproteins. *Atherosclerosis*, 166(2): 311-21, 2003.
- SRIVASTAVA, R.A. Scavenger receptor class B type I expression in murine brain and regulation by estrogen and dietary cholesterol. *J Neurol Sci*, 210(1-2):11-8, 2003.
- STANGE, E.F.; DIETSCHY, J.M. The origin of cholesterol in the mesenteric lymph of the rat. *J Lipid Res*, 26(2):175-84, 1985.
- STAVENOW, L.; KJELLSTROM, T. Influence of serum triglyceride levels on the risk for myocardial infarction in 12,510 middle aged males: interaction with serum cholesterol. *Atherosclerosis*, 147(2): 243-7, 1999.
- SUTER, P.M.; SCHUTZ, Y.; JEQUIER, E. The effect of ethanol on fat storage in healthy subjects. *N Engl J Med*, 326: 983-987, 1992.
- SUTER, P.M.; GERRITSEN-ZEHNDER, M.; HÄSLER, E.; GÜRTLER, M.; VETTER, W.; HÄNSELER, E. Effect of alcohol on postprandial lipemia with and without preprandial exercise. *J Am Coll Nutr*, 20: 58-64, 2001.
- SWISLOCKI, A.L.; CHEN, Y.D.; GOLAY, A.; CHANG, M.O.; REAVEN G.M. Insulin suppression of plasma-free fatty acid concentration in normal individuals and patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia*, 30(8): 622-6, 1987.

TANAKA, A.; TOMIE, N.; NAKANO, T.; NAKAJIMA, K.; YUI, K.; TAMURA, M.; NUMANO, F. Measurement of postprandial remnant-like particles (RLPs) following a fat-loading test. **Clin Chim Acta**, 275(1): 43-52, 1998.

TASKINEN, M.R.; NIKKILA, E.A.; VALIMAKI, M.; SANE, T.; KUUSI, T.; KESANIEMI, A.; YLIKAHRI, R. Alcohol-induced changes in serum lipoproteins and in their metabolism. **Am Heart J**, 113(2 Pt 2):458-64, 1987.

THOLSTRUP, T.; SANDSTRÖM, B.; BYSTED, A.; HØLMER, G. Effect of 6 dietary fatty acids on the postprandial lipid profile, plasma fatty acids, lipoprotein lipase, and cholesterol ester transfer activities in healthy young men. **Am J Clinical Nutrition**, 73: 198-208, 2001.

THOMSEN, C.; RASMUSSEN, O.; LOUSEN, T.; HOLST, J.J.; FENSELAU, S.; SCHREZENMEIR, J.; HERMANSEN, K. Differential effects of saturated and monounsaturated fatty acids on postprandial lipemia and incretin responses in healthy subjects. **Am J Clin Nutr**, 69:1135-1143, 1999.

TIKKANEN, M.J. and NIKKILA, E.A. Current pharmacologic treatment of elevated serum cholesterol. **Circulation**, 76: 529-533, 1987.

TURLEY, S.D.; DIETSCHY, J.M. Sterol absorption by the small intestine. **Curr Opin Lipidol**, 14(3):233-40, 2003.

VAN WIJK, J.P.; HALKES, C.J.; ERKELENS, D.W.; CABEZAS, M.C. Fasting and daylong triglycerides in obesity with and without type 2 diabetes. **Metabolism**, 52(8): 1043-9, 2003.

VAUGHAN, M. Oxidative modification of macromolecules. **J Biol Chem**, 272: 18513, 1997.

VERGES, M.; BENSADOUN, A.; HERZ, J.; BELCHER, J.D.; HAVEL, R.J. Endocytosis of hepatic lipase and lipoprotein lipase into rat liver hepatocytes in vivo is mediated by the low density lipoprotein receptor-related protein. **J Biol Chem**, 279(10):9030-6, 2004.

VOET, D.; VOET, J.G.; PRATT, C.W. Metabolismo dos lipídeos - Capítulo 19. Fundamentos de Bioquímica. São Paulo, Ed. Artes Médicas, 2000. p.563

VOHL, M.C.; LAMARCHE, B.; MOORJANI, S.; PRUD'HOMME, D.; NADEAU, A.; BOUCHARD, C.; LUPIEN, P.J.; DESPRES, J.P. The lipoprotein lipase *HindIII* polymorphism modulates plasma triglyceride levels in visceral obesity. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 15: 714-720, 1995.

WANG, Y.; ORAM, J.F. Unsaturated fatty acids inhibit cholesterol efflux from macrophages by increasing degradation of ATP-binding cassette transporter A1. **J Biol Chem**, 277(7): 5692-7, 2002.

WATTS, G.F.; MAMO, J.C.; REDGRAVE, T.G. Postprandial dyslipidaemia in a nutshell: food for thought. **Aust N Z J Med**, 28(6): 816-23, 1998.

WEINTRAUB, M.S.; GROSSKOPF, I.; RASSIN, T.; MILLER, H.; CHARACH, G.; ROTWENSCH, H.H.; LIRON, M.; RUBINSTEIN, A.; IAINA, A. Clearance of chylomicrons remnants in normolipidemic patients with coronary heart disease: case control study over three years. **Brit Med J**, 312: 935-939, 1996.

WEINTRAUB, M.; GROSSKOPF, I.; CHARACH, G.; ECKSTEIN, N.; RUBINSTEIN, A. Hormone replacement therapy enhances postprandial lipid metabolism in postmenopausal women. **Metabolism**, 48(9):1193-6, 1999.

WEISGRABER, K.H. Apolipoprotein E: structure-function relationships. **Adv Protein Chem**, 45: 249-302, 1994.

WELTMAN, A.; DESPRES, J.P.; CLASEY, J.L.; WELTMAN, J.Y.; WIDEMAN, L.; KANALEY, J.; PATRIE, J.; BERGERON, J.; THORNER, M.O.; BOUCHARD, C.; HARTMAN, M.L. Impact of abdominal visceral fat, growth hormone, fitness, and insulin on lipids and lipoproteins in older adults. **Metabolism**, 52(1): 73-80, 2003.

WENDER, M.; HAN, CH.; WEHTLI, E.; BIMMLER, D.; SHULTHESS, G.; HAUSER, H. Role of scavenger receptors SR-BI and CD36 in selective sterol uptake in the small intestine. **Biochemistry**, 40: 11643-50, 2001.

WESTERGAARD, H.; DIETSCHY J.M. The mechanism whereby bile acid micelles increase the rate of fatty acid and cholesterol uptake into the intestinal mucosal cell. **J Clin Invest**, 58(1): 97-108, 1976.

WESTERVELD, H.E. Estrogens and postprandial lipid metabolism. **Atherosclerosis**, 141(Supl 1):S105-7, 1998.

WHITMAN, S.C.; MILLER, D.B.; WOLFE, B.M.; HEGELE, R.A.; HUFF, M.W. Uptake of type III hypertriglyceridemic VLDL by macrophages is enhanced by oxidation, especially after remnant formation. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 17: 1707-1715, 1997.

WILMINK, H.W.; TWICKLER, M.B.; BANGA, J.D.; DALLINGA-THIE, G.M.; EELTINK, H.; ERKELENS, D.W.; RABELINK, T.J.; STROES, E.S. Effect of statin versus fibrate on postprandial endothelial dysfunction: role of remnant-like particles. **Cardiovasc Res**, 50(3): 577-82, 2001.

WINGARD, D.L.; SUAREZ, L.; BARRETT-CONNOR, E. The sex differential in mortality from all causes and ischemic heart disease. **Am J Epidemiol**, 117(2): 165-72, 1983.

YAMASHITA, S; SAKAI, N.; HIRANO, K. *et al.* Roles of plasma lipid transfer proteins in reverse cholesterol transport. **Front Biosci**, 6:366-387, 2001.

YAMAZAKI, K.; BUJO, H.; TAIRA, K.; ITOU, N.; SHIBASAKI, M.; TAKAHASHI, K. AND SAITO, Y. Increased circulating malondialdehyde-modified LDL in the patients with familial combined hyperlipidemia and its relation with the hepatic lipase activity. **Atherosclerosis**, 172(1): 181-7, 2004.

YIP, R.G.; WOLFE, M.M. GIP biology and fat metabolism. **Life Sci**, 66(2): 91-103, 2000.

YU, K.C.; MAMO, J.C. Regulation of cholesterol synthesis and esterification in primary cultures of macrophages following uptake of chylomicron remnants. **Biochem Mol Biol Int**, 41(1): 33-9, 1997.

YU, K.C.W.; COOPER, A.D. Postprandial lipoprotein and atherosclerosis. **Frontiers in Bioscience**, 6:d332-354, 2001.

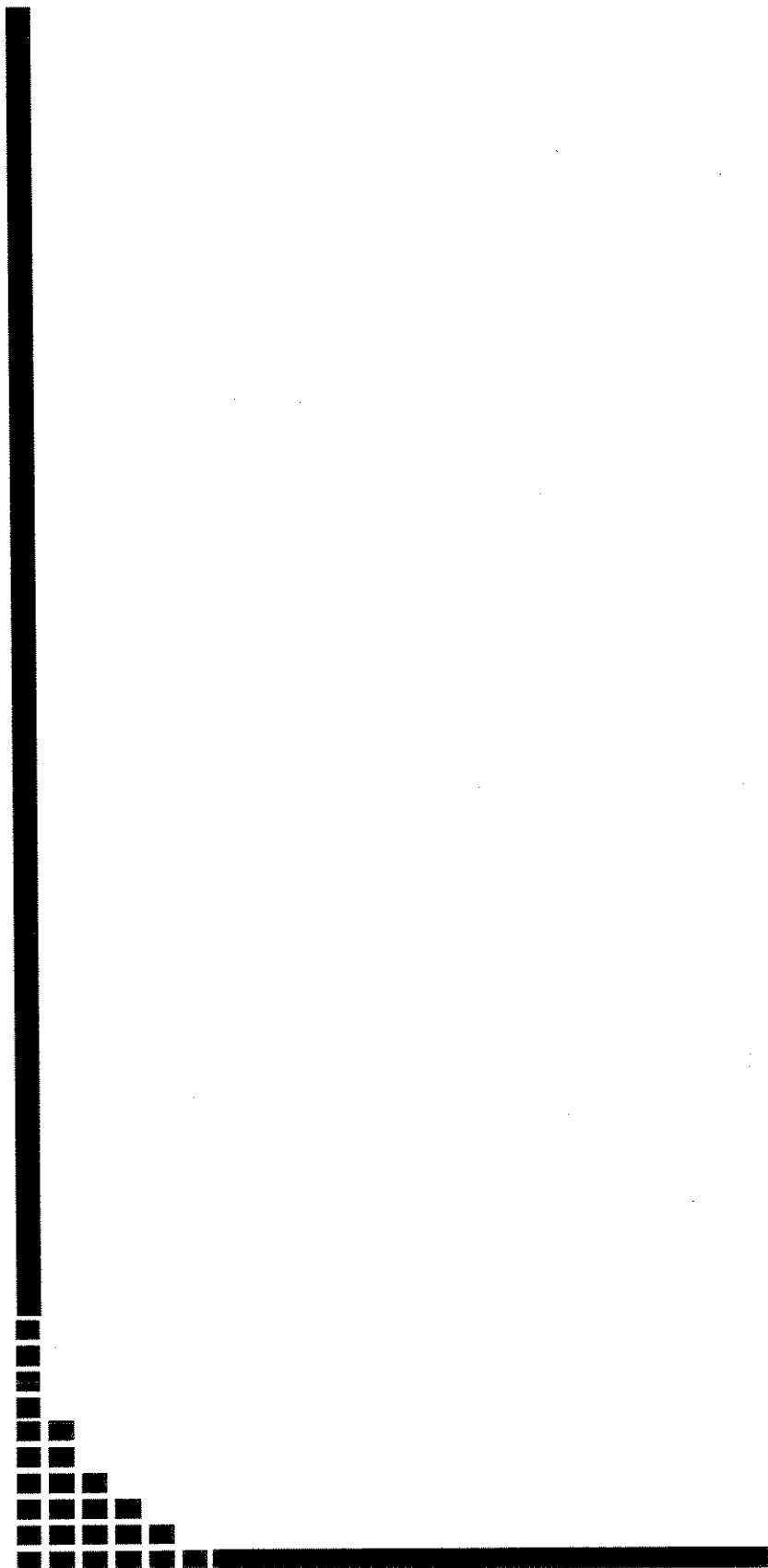
ZAMBON, A.; AUSTIN, M.A.; BROWN, B.G.; HOKANSON, J.E.; BRUNZELL, J.D. Effect of hepatic lipase on LDL in normal men and those with coronary artery disease. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 13: 147-153, 1993.

ZAMBON, A.; SCHMIDT, I.; BEISIEGEL, U.; BRUNZELL, J.D. Dimeric lipoprotein lipase is bound to triglyceride-rich plasma lipoproteins. **J Lipid Res**, 37: 2394-2404, 1996.

ZENG B.; MORTIMER B.; MARTINS I.J.; SEYDEL, U.; REDGRAVE, T. G. Chylomicron remnant uptake is regulated by the expression and function of heparan sulfate proteoglycan in hepatocytes. **J Lipid Res**, 39: 845-860, 1998.

ZILVERSMIT, D.B. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. **Circulation**, 60:473-485, 1979.

ZILVERSMIT, D.B. Atherogenic nature of triglycerides, postprandial lipidemia, and triglyceride-rich remnant lipoproteins. **Clin Chem**, 41: 153-158, 1995.



ANEXOS

QUESTIONÁRIO CLÍNICO:

1) IDENTIFICAÇÃO:

Nome: _____ Data: _____

HC: _____

Data de nascimento / Idade: _____ Sexo: _____ Raça: _____

Número de filhos: _____

Profissão: _____

Endereço residencial: _____

Endereço comercial: _____

Telefones: _____

2) DADOS ANTROPOMÉTRICOS:

Peso (kg): _____ Altura (m): _____ IMC (kg/m^2): _____ Cintura (cm): _____

3) DADOS CLÍNICOS:

PA (mm Hg): _____ FC (bpm): _____

Sopros: _____

Xantomas: _____ Arco senil: _____

Tiróide: _____ Acanthosis nigricans: _____

ACV : _____

AR: _____

Ap. Digestivo _____

Ap. Genito-urinário: _____

SN: _____

Sistema Músculo-esq.: _____

4) HÁBITOS DE VIDA:

Tabagismo: _____ no. cigarros/dia: _____ tempo (anos): _____

Etilismo: tipo bebida: no. doses /dia ou semana: tempo:
Atividade física (ocasional/regular): no. vezes / semana: tempo:
Alimentação: quantidade: tipo:

5) HISTÓRICO INDIVIDUAL:

Usa medicamentos (quais): Dose: Tempo:

Doenças anteriores:

Climatério /TRH (com ou sem reposição estrogênica):

Internações:

Cirurgias:

Exames de localização anteriores (RX, USG / RM / Coronarioangiografia, etc) / data:

7) HISTÓRICO FAMILIAR (sexo e idade dos eventos):

DAC:

AVC:

Doença vascular periférica:

Diabetes:

Hipertensão arterial:

Obesidade:

D. tiróide:

D. renais:

D. hepáticas:

8) OBSERVAÇÕES:

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**Projeto: TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA À GORDURA EM HOMENS E MULHERES: ESTABELECIMENTO DOS VALORES DE REFERÊNCIA DA LIPEMIA PÓS-ALIMENTAR**

Responsáveis pelo projeto: Prof^a Dr. Eliana Cotta de Faria, Prof^a Dr. Lúcia Nassi Castilho
Juliana Tentor

Eu, _____ Sexo: _____ Idade: _____
RG: _____ HC: _____
End: _____

Concordo em participar do presente estudo, após estar absolutamente esclarecido(a) dos propósitos do mesmo.

Responsável pelo Voluntários:

Nome: _____ Sexo: _____ Idade: _____
Parentesco: _____ Documento comprobatório: _____
End: _____

As lipoproteínas, estruturas responsáveis pelo transporte de gorduras no sangue, aumentam após as refeições. O aumento no sangue dessas lipoproteínas está relacionado ao desenvolvimento de doenças do coração, porque podem depositar-se nas artérias. O objetivo deste trabalho é o de se estabelecer os valores de referência da gordura transportada por estas lipoproteínas durante um período de 8 horas, após uma refeição contendo grande quantidade de gordura.

Sua participação no projeto inclui 4 visitas: três ao HC-UNICAMP e 1 visita à uma clínica especializada em ultrasonografia.

1ª visita – medidas de dados antropométricos. Coleta de sangue (10 mL) em jejum de 12 horas para triagem. Serão realizados os seguintes exames: glicose, perfil lipídico (colesterol total, triglicerídeos, colesterol das lipoproteínas de alta densidade, baixa densidade e de densidade muito baixa), renal (uréia, creatinina), hepático (aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, gama glutamiltransferase) endocrinológico (hormônio tireo-estimulante, tiroxina livre) (número de exames 13 e tempo da visita 60 minutos).

2ª visita – coleta de sangue após jejum de 12 horas e coletas sucessivas de sangue após 2, 4, 6 e 8 horas (25 mL em cada coleta) após tomar um *milkshake* de leite em pó NAN – sem lactose (Nestlé). Os exames realizados em cada coleta serão nos tempos 0, 2, 4, 6 e 8 horas: dosagens de colesterol total e frações (colesterol das lipoproteínas de alta densidade, baixa densidade e de densidade muito baixa), triacilgliceróis, apolipoproteínas AI, apolipoproteínas B100, ácidos graxos livres, fosfolípidos (número de exames 9 por tempo; tempo da visita 9 horas).

As coletas de sangue serão realizadas preferencialmente no Serviço de Coleta da Divisão de Patologia Clínica do HC-UNICAMP e durante o período de permanência entre as coletas o participante ficará na sala de procedimentos experimentais da Disciplina de Endocrinologia. Neste período passará por exame clínico, responderá a um questionário sobre seus antecedentes pessoais e familiares e assinará este termo de consentimento.

3ª visita – coleta de sangue em jejum de 12 horas (8mL). Injeção endovenosa de heparina (100 UI/kg de peso) e nova coleta de sangue (8 mL) após 15 minutos; (tempo da visita 30 minutos) para dosagem das enzimas (lipoproteína lipase e lipase hepática)

4ª visita – exame ultrasonográfico das artérias carótidas (localizadas na região do pescoço) em clínica especializada a ser previamente agendada (duração do exame aproximadamente 40 minutos).

Riscos e desconfortos:

O Sr(a). deverá dispor de 4 dias para participar do estudo: 1ª visita - triagem com 20 minutos de duração, 2ª visita - nove horas para o teste e 30 a 40 minutos para os 3ª e 4ª visitas. Terá que se apresentar em jejum de 12 horas nas 3 primeiras visitas. Outros desconfortos seriam: punção venosa para as coletas de sangue podendo aparecer uma mancha roxa e/ou dor no local (nas 3 visitas ao HC-UNICAMP); injeção de heparina na 3ª visita e ingestão de um *milkshake* (cerca de 700 mL). Na 4ª visita ter que se locomover até a clínica de ultrasonografia.

Benefícios esperados:

O voluntário será beneficiado com a oportunidade de verificar o seu estado de saúde através de exames clínico e laboratorial. Caso detecte-se alterações, o Sr(a) poderá, se quiser, ser encaminhado pelos responsáveis da pesquisa para o Ambulatório de Dislipidemias (cód. 2001) ou outros ambulatórios especializados do HC para tratamento.

Garante-se:

O esclarecimento de qualquer dúvida que possa surgir antes ou durante a realização do projeto; desistência na participação no projeto a qualquer momento sem o prejuízo da assistência médica; ressarcimento de passagens de ônibus e lanche; a assistência médica no caso de eventuais intercorrências durante as visitas; sigilo das informações recebidas; privacidade e compromisso de que sua identidade não será revelada nas conclusões e/ou publicações do trabalho; acesso a informações quanto aos resultados decorrentes da pesquisa; atestado médico nos dias de visita.

Quaisquer outras dúvidas de sua parte poderão ser dirigidas ao
Comitê de Ética em Pesquisa da FCM/UNICAMP: (19) 3788-8936

Outros telefones úteis dos responsáveis pelo projeto:

Profª. Drª Eliana C. Faria ou Profª. Drª Lúcia Nassi Castilho: (19) 3788-7064
Campinas,de.....de.....

Ass. do voluntário:.....

Ass. do responsável pelo projeto:.....

Juliana Tentor