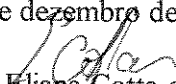


RAQUEL TIEMI TAKATA

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa 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) **RAQUEL TIEMI TAKATA**.

Campinas, 15 de dezembro de 2005.


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

**ABORDAGEM CLÍNICO-LABORATORIAL DAS
DISLIPIDEMIAS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES,
COM ÊNFASE NA HIPERTRIGLICERIDEMIA GRAVE:
Estudo populacional e de casos clínicos**

CAMPINAS

2005

i

**BIBLIOTECA CENTRAL
DESENVOLVIMENTO
COLEÇÃO
UNICAMP**

RAQUEL TIEMI TAKATA

**ABORDAGEM CLÍNICO-LABORATORIAL DAS
DISLIPIDEMIAS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES,
COM ÊNFASE NA HIPERTRIGLICERIDEMIA GRAVE:
Estudo populacional e de casos clínicos**

*Dissertação 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 concentração
Ciências Biomédicas*

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Eliana Cotta de Faria

CAMPINAS

2005

UNIDADE BC
Nº CHAMADA TVUNICAMP
T139a

V EX
TOMBOC. 67974
PROC. 16-123-06
C D X
PREÇO 11,00
DATA 22/04/06
Nº CPD

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

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

Bib. n.º 377369

T139a

Takata, Raquel Tiemi

Abordagem clínico-laboratorial das dislipidemias em crianças e adolescentes com ênfase na hipertrigliceridemia grave: estudo populacional e de casos clínicos / Raquel Tiemi Takata. Campinas, SP : [s.n.], 2005.

Orientador : Eliana Cotta de Faria

Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Hipertrigliceridemia. 2. Hiperlipidemia. I. Faria, Eliana Cotta de. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

(Slp/fcm)

Título em inglês: *Clinical-laboratorial approach of the dyslipidemias in children and adolescents with emphasis in the serious hypertriglyceridemia: populational and clinical cases study*

Keywords: • Hypertriglyceridemia
• Dyslipidemia

Área de concentração: Ciências Biomédicas

Titulação: Mestrado

Banca Examinadora: Prof. Antonio Fernando Ribeiro

Profa. Elizabeth Teixeira Mendes Livramento Prado

Prof. Antonio de Azevedo Barros Filho

Data de Defesa: 15/12/2005

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

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

Membros:

1. Antônio Fernando Ribeiro

2. Elizabeth Teixeira Mendes Livramento Prado

3. Antônio de Azevedo Barros Filho

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

Data: 15/12/2005

*Dedico este trabalho a Deus, pela vida, e a meus pais, pelo carinho,
compreensão e apoio em todos os momentos de minha vida.*

*Dedico este trabalho a todos os pacientes do Hospital de Clínicas da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas e da
Faculdade de Medicina da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.*

AGRADECIMENTOS

A Dra. Elizabeth Prado (Hepatopediatria/Santa Casa de Misericórdia de São Paulo), ao Residente da Hepatopediatria, Marcelo Mori (Santa Casa de Misericórdia de São Paulo) e ao Dr. Osmar Monte (Endocrinopediatria/Santa Casa de Misericórdia de São Paulo).

Ao Dr. Roberto Schreiber, pelo suporte didático-teórico, técnico e bioquímico e pelas análises moleculares.

A Sra. Aparecida S. Pereira, pela dedicação, pelo suporte técnico e pela coleta de material para as análises.

Às seguintes equipes da Universidade Estadual de Campinas:

- Da Divisão de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas, a todo o grupo do laboratório de Bioquímica Clínica e, principalmente, à Mirian Danelon.
- À Lucélia Andrade Moya (Seção de coleta).
- Do Ambulatório de Cardiofarmacologia e Hipertensão: ao Dr. Juan Yugar Carlos Toledo, à Dra. Samira Ubaide Giriolo, a Leoni Adriana Barbosa e ao Dr. Heitor Moreno Júnior.
- Do Alfa Diagnóstico: especialmente ao Dr. Rui Nakamura quem contribuiu para a realização das medidas radiológicas.

A Dra. Eliana Cotta de Faria, minha admiração pelo interesse contínuo no desenvolvimento da Ciência e na arte de aprender a ensinar, meu agradecimento pela dedicação a este trabalho.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

*“O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada.
Caminhando e semeando, no fim terás o que colher”.*

Cora Coralina

	<i>Pág.</i>
RESUMO.....	xxv
ABSTRACT.....	xxix
1- INTRODUÇÃO GERAL.....	33
2- OBJETIVOS.....	55
3- SUJEITOS E MÉTODOS.....	59
4- RESULTADOS.....	69
4.1- Capítulo 1: Trabalho científico 1.....	73
4.2- Capítulo 2: Caso clínico 1.....	94
4.3- Capítulo 3: Caso clínico 2 e 3.....	107
5- DISCUSSÃO GERAL.....	121
6- CONCLUSÃO GERAL.....	127
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	131

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Apo	apolipoproteína
C	colesterol total
CE	colesterol esterificado
CETP	proteína transportadora de ésteres de colesterol
CL	colesterol livre
DAC	doença arterial coronariana
EIM	espessura da íntima- média da carótida
FL	fosfolípidos
FMD	vasodilatação mediada pelo fluxo
HDL-C	lipoproteína de alta densidade
HDL₂	subfração 2 da lipoproteína de alta densidade
HDL₃	subfração 3 da lipoproteína de alta densidade
HF	Hipercolesterolemia familiar
HCF	Hipercolesterolemia familiar combinada
HL	lipase hepática
IDL	lipoproteína de densidade intermediária
ICAM-1	molécula 1 de adesão intercelular nas células do endotélio
IL-6	interleucina 6
IMC	índice de massa corpórea
Lp(a)	lipoproteína (a)
LCAT	lecitina colesterol acil transferase

LDL-C	colesterol de lipoproteína de baixa densidade
LPL	lipoproteína lipase
LRP	proteína relacionada ao receptor de LDL
NO sintetase	Óxido nítrico sintetase
PCR	proteína C reativa
RER	retículo endoplasmático rugoso
Receptor BE	receptor de LDL
SRB	receptor <i>scavenger</i> ou de varredura
Tg	triacilglicerol
TG	triglicerídeos
VCAM-1	molécula 1 de adesão celular vascular
VLDL	lipoproteína de densidade muito baixa

LISTA DE TABELAS

	<i>Pág.</i>
Tabela 1 Valores recomendados para perfil lipídico em crianças e adolescentes segundo o NCEP (National Cholesterol Education Program).....	44
Tabela 2 Valores percentis recomendados para o perfil lipídico em crianças e adolescentes, segundo Bethell.....	45
Tabela 3 Mutações do gene da lipoproteína lipase.....	51

LISTA DE FIGURAS

	<i>Pág.</i>
Figura 1 Desenho esquemático do quilomicron.....	36
Figura 2 Metabolismo das lipoproteínas plasmáticas: ciclo exógeno e endógeno.....	38
Figura 3 Medida da espessura da íntima-média da artéria.....	66
Figura 4 Protocolo para mensurar FMD (vasodilatação arterial mediada pelo fluxo ou endotélio dependente).....	67

LISTA DE QUADROS

	<i>Pág.</i>
Quadro 1 Principais lipoproteínas, suas características físico-químicas e composição química.....	35
Quadro 2 Percentis 5 e 95 da espessura íntima-média de carótidas em crianças e adolescentes saudáveis.....	43
Quadro 3 Classificação etiológica das dislipidemias.....	46
Quadro 4 Classificação etiopatogênica e clínica da hipertrigliceridemia primária.....	47

RESUMO

Foi objetivo deste trabalho realizar um estudo para a avaliação do perfil lipídico de crianças e adolescentes (1 dia a 19 anos) atendidos nos ambulatórios de Pediatria do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas, em Campinas, no interior do estado de São Paulo. No período de 2000 a 2003 observou-se que entre 2031 indivíduos avaliados, 34% apresentaram colesterol e triglicerídeos acima do valor esperado para a faixa etária, 34% apresentaram colesterol elevado e HDL-C baixo e 19% demonstraram triglicerídeos altos e HDL-C baixo, indicando que a frequência de dislipidemias em crianças e adolescentes nesta região é muito alta.

Também neste trabalho realizou-se o diagnóstico clínico e laboratorial das hipertrigliceridemias graves em crianças e adolescentes, foi investigada a presença de mutações associadas à deficiência da lipoproteína lipase e foi identificou a presença de marcadores precoces da aterosclerose.

Em crianças a hipertrigliceridemia pode ser de causa primária ou genética e/ou secundária à doença ou medicamentos. As de causa genética são raras na infância.

A deficiência da lipoproteína lipase (LPL) é uma doença autossômica recessiva que acomete 1:1.000.000 de indivíduos na população geral. Cursa com hipertrigliceridemia grave. O diagnóstico inicial pode ser realizado pela presença de soro lipêmico e por episódios recorrentes de dor abdominal. Na literatura são descritas mais de 200 mutações associadas à deficiência da lipoproteína lipase. Dentre as mais frequentes são aquelas localizadas no códon 188, 291 e 297 do gene da LPL. Alguns trabalhos demonstram que os pacientes portadores da mutação do gene da LPL apresentam aumento do risco relativo de desenvolverem doença cardiovascular prematura. Portanto a detecção dessas mutações é benéfica tanto para o diagnóstico e tratamento da doença quanto para a monitorização de sinais precoces da doença aterosclerótica.

Nos casos selecionados de hipertrigliceridemias graves a caracterização fenotípica mostrou a presença de epididimite e ou quadro abdominal sugestivo de pancreatite aguda em crianças e adolescentes.

Foram realizados dosagem séricas de lípides, lipoproteínas, apolipoproteínas séricas e marcadores da doença arterial coronariana por métodos bioquímicos. Por técnicas de biologia molecular investigou-se a presença das mutações nos códons 188, 174 e 9.

A presença de sinais precoces de aterosclerose foi avaliada pela medida da espessura da camada íntima-média das artérias carótidas e por marcadores bioquímicos (LDL-oxidada, PCR e IL-6) da doença arterial coronariana.

Os resultados mostraram que os sinais precoces da doença arterial coronariana podem ser evidenciados pelo aumento da espessura íntima-média das carótidas em crianças e adolescentes com hipertrigliceridemia grave.

ABSTRACT

The first goal was to evaluate of the lipidic profile of children and adolescents (1 day-19 years) of the Clinical Hospital at University of Campinas, in Campinas, São Paulo. in the period of 2000 to 2003 was performed. It was observed that among the 2031 individuals evaluated, 34% showed total cholesterol and triglycerides above the expected value for the age group, 34% showed high cholesterol and low HDL-cholesterol and 19% showed high triglycerides and low HDL-cholesterol. In other words, the frequency of dislipidemias in the age range is very high.

The aim was work to proceed to the laboratorial diagnose of severe hypertriglyceridemias in children and adolescents. Also to investigate the presence of mutations associated with deficiency of the lipoprotein lipase as a genetical cause of severe hypertriglyceridemia and to identify the presence of precocious markers of atherosclerosis

Hypertriglyceridemia in children can be of primary or genetic cause and/or secondary to diseases or medications. The genetic causes are rare in the childhood. The deficit of the lipoprotein lipase (LPL), a recessive autosomic disease is present 1: 1.000.000 of individuals in the general population. It is a pathology that courses with severe hypertriglyceridemia. Initial by the diagnosis can be achieved by the presence of lipemic serum and by the recurrent episodes of abdominal pain. The literature describes more than 200 mutations associated to the deficiency of the lipoprotein lipase. The more frequent in the 188, 291 and 297 codons of the LPL gene. Some studies demonstrate that patients carrying the mutation in the LPL gene show an increased relative risk to develop premature cardiovascular disease. Therefore the detection of these mutations is beneficial for the diagnosis and treatment as well as for the monitorization of precocious signals of the atherosclerotic disease.

The phenotypical characterization of the selected cases of severe hypertriglyceridemia showed the presence of epididymitis and acute pancreatitis in children and adolescents. Lipids, lipoproteins, seric apolipoproteins and markers of coronary artery disease by biochemical methods. Through out molecular biology techniques the presence of mutation in the 188 codon was determined.

The presence of precocious signals of coronary artery disease was evaluated by the measurement of the thickness of the intima-medium layer of carotids arteries and by biochemical markers the coronary artery disease. The results showed that the precocious signals of coronary artery disease can already be present by the increase of the thickness of the intima-media of the carotid, in children and adolescents with severe hypertriglyceridemia.

1- INTRODUÇÃO GERAL

1.1- Lípides e lipoproteínas

Os lipídeos são moléculas insolúveis ou pouco solúveis em água. Para seu transporte plasmático constituem-se em lipoproteínas que são macroagregados moleculares esféricos que apresentam um núcleo contendo os lipídeos hidrofóbicos e na superfície externa os lipídeos hidrofílicos e as apoproteínas (CISTERNAS E MONTE, 1998). As principais lipoproteínas são: quilomicrons, lipoproteínas de densidade intermediária, de alta densidade, de densidade baixa e de densidade muito baixa e lipoproteína(a). Na tabela abaixo apresentam-se as principais lipoproteínas, suas características físico-químicas e sua composição química.

Quadro 1- Principais lipoproteínas, suas características físico-químicas e composição química

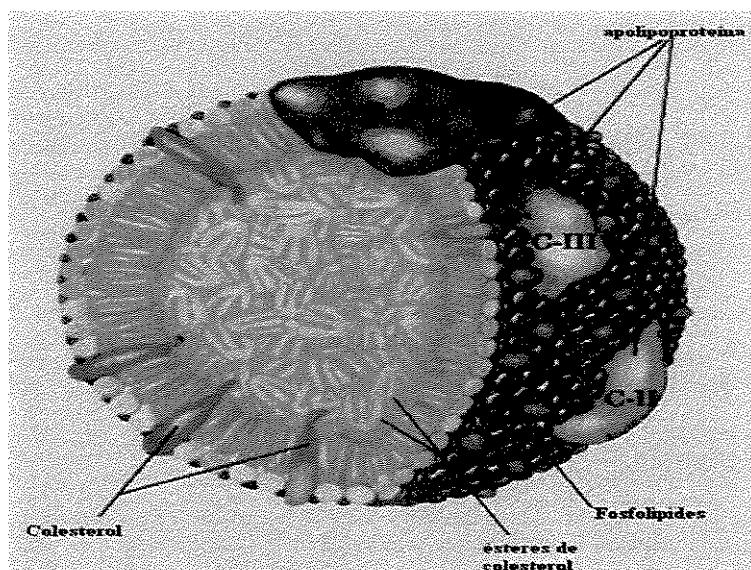
Fração Lipoprotéica	Conteúdo (mol %)					Densidade (g/mL)	Migração Eletroforética	Diâmetro (Å)
	Núcleo		Superfície					
	CE	TG	CL	FL	após			
Quilomicrom	5	95	35	65	2	0,95	Origem	1,000- 4,000
VLDL	24	76	43	55	2	0,95 -1,006	Pré-beta	400-700
IDL	22	78	38	60	2	1,006-1,023	Pré-beta, beta	300-600
LDL	81	19	42	52	0,2	1,023-1,063	Beta	225-275
HDL2	82	18	22	75	2	1,063-1,125	Alfa	90-120
HDL3	84	16	23	23	5	1,125-1,210	Alfa	50-90

Baseado em Mahley et al, 2003

1.2- Metabolismo das lipoproteínas plasmáticas

Após a digestão, os principais lipídes da dieta (ácidos graxos livres e colesterol) são reesterificados na mucosa intestinal e formam os triglicerídeos e o colesterol esterificado que são incorporados ao núcleo dos quilomicrons.

A camada superficial dos quilomicrons é constituída de Apo B48, Apo A1 e Apo AII. Após a sua síntese, os quilomicrons são secretados na linfa intestinal e através do ducto torácico atingem a circulação sanguínea. Os quilomicrons captam Apo CII, Apo CIII, Apo E (CISTERNAS E MONTE, 1998) de outras lipoproteínas circulantes e de colesterol de membranas celulares.



Baseado em [www. Medicinapreventiva.com.br/laboratório/trigliceridos](http://www.Medicinapreventiva.com.br/laboratório/trigliceridos)

Figura 1- Desenho esquemático do quilomicron.

Após os quilomicrons adquirirem a Apo CII (cofator positivo) inicia-se a hidrólise dos seus triglicerídeos pela lipoproteína lipase. Os ácidos graxos livres ligados à albumina na circulação, produto desta hidrólise, são captados pelo tecido adiposo para armazenamento como triglicerídeos ou pelo tecido muscular para fins energéticos (GREENSPAM et al., 1998).

Durante a hidrólise fosfolípidos, colesterol livre, Apo CII e Apo CIII são transferidos para a HDL ou dão origem a partículas precursoras de HDL as pré-beta-HDL. Os quilomicrons reduzem seu tamanho passando a quilomicrons remanescentes que contêm alto teor de colesterol total e Apo E. Os quilomicrons remanescentes são captados por receptores localizados nos hepatócitos: o receptor de LDL ou receptor BE e o LRP ou proteína relacionada ao receptor de LDL (NAKANDAKARE E QUINTAO 1998).

O hepatócito sintetiza a VLDL. No retículo endoplasmático rugoso é sintetizada a apo B nascente que se liga a lipídeos do retículo endoplasmático liso. As VLDL são armazenadas na vesícula do Complexo de Golgi e após são secretadas no plasma. O núcleo da VLDL é constituído principalmente de triglicerídeos e sua superfície apresenta as apoproteínas apoB100, apo CII, apo CIII e apoE. Quando a VLDL adquire a apoCII, os triglicerídeos do seu núcleo são hidrolisados pela LPL. O núcleo fica reduzido e há produção das VLDL remanescentes e das IDL. As VLDL remanescentes têm vários destinos: removidas da circulação por receptores BE ou por receptores de VLDL e conversão à LDL através da hidrólise pela lipase hepática, enzima hidrolítica localizada no leito capilar sinusoidal. No ser humano, 30% a 40% dos VLDL remanescentes dão origem às LDL (KWITEROVICH et al., 1995).

As LDL promovem o transporte de colesterol aos diferentes tecidos. As LDL podem ser captadas por receptores de LDL ou BE. Cerca de dois terços das LDL plasmáticas são removidas via receptor tissular e um terço é removido por receptores (MARANHÃO, 2001).

A HDL colesterol é uma lipoproteína de alta densidade secretada pelo fígado e intestino na sua forma nascente ou a partir da hidrólise das lipoproteínas ricas em TG e é responsável pelo transporte reverso de colesterol (SCATERZINI et al., 2003). A HDL nascente sofre a ação da LCAT e é transformada em HDL₃. A HDL₃ recebe fosfolípidos e colesterol e é transformada em HDL₂. A HDL transporta ao fígado o colesterol em excesso captado das membranas celulares, ou de outras lipoproteínas após sua esterificação, liberando-o a receptores SR B1 hepáticos (receptor *scavenger* ou de varredura de classe B tipo 1). O colesterol pode retornar ao fígado (BERHMAN et al., 1997) também pela transferência de colesterol esterificado de HDL para VLDL e IDL via CETP (*cholesteryl ester transfer protein*).

O transporte reverso de colesterol consiste no efluxo de colesterol livre de células pelas lipoproteínas de alta densidade via receptor ABCA 1 (proteína transportadora cassete dependente da adenosina trifosfato do tipo A1). A enzima lecitina colesterol aciltransferase esterifica o colesterol das HDL o qual é transferido para os quilomicrons, VLDL e LDL pela proteína de transferência de colesterol esterificado (GREENSPAN et al., 2000).

et al., 2003). Mas a manifestação clínica da arterosclerose não é evidente antes da meia-idade (MELLIÉS, 1983). O comprometimento da artéria aorta em pacientes entre 7 e 24 anos por estrias gordurosas está diretamente correlacionado às concentrações séricas de colesterol total, LDL-C e peso corporal. Quanto à artéria coronariana, seu comprometimento por estrias gordurosas está associado ao aumento de LDL-C. Em pacientes brancos do sexo masculino, a presença de estrias gordurosas correlacionou-se com os valores de triglicerídeos, pressão arterial diastólica e sistólica e índice de massa corpórea (FRANÇOSO e COATES, 2000). O estudo Bogalusa avaliou os fatores precursores de doença arterial coronariana na infância (MIHKAEL et al., 2004). Demonstrou-se que o aumento do índice de massa corpórea, da pressão sistólica, do LDL-C, dos triglicerídeos e do tabagismo correlacionam-se com as lesões ateroscleróticas evidenciadas nas lesões anatomopatológicas. Os mesmos fatores de risco que estão associados à doença arterial coronariana no adulto estão associados a lesões ateroscleróticas em crianças como demonstrou este estudo (BELAY, 2004). As elevações de LDL-C e diminuição de HDL-C têm sido associadas com o risco do paciente evoluir para a doença arterial coronariana (GAZIANO et al., 1997).

Alguns trabalhos demonstram que pacientes com hipertrigliceridemia apresentam risco coronariano aumentado (BREUER, 2003). A hipertrigliceridemia associa-se com um perfil lipídico mais aterogênico, caracterizado pelo surgimento de partículas de LDL-C pequenas e densas e diminuição dos níveis de HDL-C (RAVI et al., 2004).

Os pacientes com hipertrigliceridemia moderada e com LDL-C elevado apresentam aumento de apoB. Nesse caso, há um grande número de partículas de VLDL no plasma e com aumento de LDL e com diminuição de HDL-C (RAVI et al., 2004). Também na hipertrigliceridemia há ativação dos fatores de coagulação (aumento do fibrinogênio e fator VII).

Em alguns estudos, a elevação de triglicerídeos foi considerada fator de risco para a doença aterosclerótica somente na presença de níveis elevados de colesterol. Outros trabalhos têm verificado que HDL-C se correlaciona negativamente com o desenvolvimento da doença arterial coronariana. As concentrações de HDL-C se associam negativamente com os valores plasmáticos de triglicerídeos (MANNINEN et al., 1993).

Segundo o estudo PROCAM, pacientes com triglicerídeos séricos maiores que 204mg/dL e que apresentam a razão LDL-C para HDL-C maior que cinco apresentam maior risco cardiovascular

As crianças com aumento concomitante de triglicerídeos e colesterol apresentam risco cardiovascular maior do que aquelas que apresentam hipertrigliceridemia isolada. O risco cardiovascular em crianças está associado a fatores como dislipidemia, obesidade hipertensão arterial e história familiar de doença cardiovascular prematura (GLOWINSKA et al., 2003).

As dislipidemias familiares como hipertrigliceridemia familiar, hiperlipidemia familiar combinada e hipercolesterolemia familiar são hiperlipidemias associadas ao risco de doença arterial coronariana. Alguns trabalhos na literatura sugerem que a diminuição dos níveis de triglicerídeos pode reduzir o risco para a aterosclerose (BRESLOW, 2000).

As dislipidemias como hiperlipidemia familiar combinada e hipercolesterolemia familiar estão associadas com disfunção endotelial (FREITAS, 2004).

1.3- Biomarcadores de estresse oxidativo e de inflamação

Estes marcadores podem auxiliar na detecção de aterosclerose subclínica em pacientes com hiperlipidemia:

1.3.1- LDL-oxidada

O aumento da concentração sérica de LDL-C, a presença de diabetes mellitus e de tabagismo podem produzir o estresse oxidativo e promover a formação de LDL-oxidada (SZAMOSI et al., 1991).

A LDL-oxidada tem sido correlacionada como agente causal da patogênese da doença aterosclerótica. Tem sido sugerida que LDL-oxidada é um biomarcador do risco de doença arterial coronariana. Os títulos de imunoglobulina IGM contra LDL-oxidada têm sido inversamente correlacionados com a doença aterosclerótica (ENGLER et al., 2003).

O desenvolvimento da doença aterosclerótica inicia-se com acúmulo de LDL-oxidada no macrófago. Como a LDL-oxidada é pró-inflamatória ela promove a quimiotaxia de monócitos para o espaço subendotelial (EHARA et al., 2001). Os efeitos da LDL-oxidada podem ser mediados por *scavenger* receptores. Os monócitos podem diferenciar a macrófagos e estes desenvolverem em células espumosas. A LDL-oxidada pode modular várias citocinas. O acúmulo de células inflamatórias aumenta o estresse oxidativo (SHIMADA et al., 2004). O estresse oxidativo e a disfunção endotelial levam à inativação do óxido nítrico. O óxido nítrico tem ação inflamatória, antiagregante e antioxidante (ROSS, 1993). A diminuição do óxido nítrico pode desencadear a lesão arteriosclerótica. Várias enzimas têm sido implicadas na oxidação da LDL como NADPH oxidases, xantina oxidase, mieloperoxidase e NO sintetase e várias espécies reativas de oxigênio que podem modificar a partícula de LDL (ROSENSON, 2004).

1.3.2- Proteína C Reativa (PCR)

A associação entre PCR e a doença cardiovascular não é clara (FORD, 2003). A PCR tem efeitos pró-inflamatórias tais como a indução da citocinas e de fatores tissulares como ICAM-1 (molécula 1 de adesão intercelular nas células do endotélio) e VCAM (molécula 1 de adesão celular vascular). Em adultos com doença arterial coronariana ou com fatores de risco os níveis elevados de PCR estão relacionados com a disfunção endotelial e o desenvolvimento da aterosclerose na artéria carótida (JARVISALO et al., 2002). Foi observado em estudos com crianças saudáveis que os níveis elevados de PCR são associados com a diminuição da vasodilatação endotelial e aumento da EIM da artéria carótida (SLYPER, 2004). As crianças com diabetes mellitus e com hipercolesterolemia apresentam aumento da espessura da íntima-média da carótida e disfunção endotelial. As infecções crônicas e a obesidade podem elevar o PCR em crianças (COOK et al., 2000). Poucos estudos correlacionam, em crianças, os valores séricos de PCR e a disfunção endotelial (FORD, 2003). Segundo o American Heart Association (AHA) considera-se pacientes de alto risco cardiovascular aqueles que estão metabolicamente estáveis (não apresentam processo inflamatório vigente) e que apresentam PCR maior que 0,3 mg/dL (RIDKER et al., 2005).

1.3.3- Interleucina 6 (IL-6)

A interleucina-6 é um marcador inflamatório e próaterogênico. É produzida pelos fagócitos mononucleares, células endoteliais e linfócitos ativados. Ela permite que os hepatócitos produzam substâncias como a proteína-C reativa que pode estar associada com várias doenças cardiovasculares (IHARA et al., 2003).

1.3.4- Lp(a)

A Lp(a) é uma lipoproteína com semelhança estrutural com a LDL. Constitui-se de apoproteína B-100 e apolipoproteína a que tem homologia com o plasminogênio o que lhe confere um caráter pró-trombótico; quando oxidada pode promover a formação de células espumosas.

Em pacientes com hipercolesterolemia familiar foi observado aumento dos níveis séricos de Lp(a) (HIRAGA et al., 1993). O mecanismo responsável pelo aumento dos níveis de Lp(a) nos pacientes com HF ainda é desconhecido (BARTH et al., 1999). Os pacientes com hipertrigliceridemia cursam com diminuição dos níveis séricos de Lp(a) e foi observado em um pequeno grupo com deficiência de LPL essa associação (BARTENS et al., 1994).

Em crianças, entre 4-19 anos os valores de Lp(a) apresentaram valores maiores em crianças negras em comparação às crianças brancas. Também aquelas crianças com história familiar de doença cardiovascular apresentaram valores mais elevados de Lp(a) (OBISESAN et al., 2004).

1.3.5- Ultrassonografia para medida da espessura da íntima-média arterial

A ultrassonografia de carótidas é um método não-invasivo que pode ser utilizada para detectar sinais precoces da arterosclerose (JARVISALO et al., 2002). Em pacientes jovens com risco cardiovascular a ultrassonografia de carótidas pode

identificar o desenvolvimento da lesão precoce aterosclerótica antes da sintomatologia clínica (DAVIS et al., 2001). Até os 18 anos de idade a espessura da camada íntima-média da artéria carótida não é afetada por idade ou sexo. Após essa idade há um aumento da espessura da íntima-média de carótidas de meninas em comparação ao sexo masculino (SASS, 1998). As crianças com fatores de risco para a doença arterial coronariana como aquelas com diabetes mellitus tipo I, hipercolesterolemia familiar e hipercolesterolemia familiar combinada, a ultrassonografia *doppler* de carótidas pode já verificar desde a infância o aumento da espessura da íntima-média das artérias carótidas (DAVIS et al., 2001).

Valores em percentis da espessura da espessura da íntima-média da artéria carótida conforme o sexo e idade são mostrados na Tabela 1.

Quadro 2- Percentis 5 e 95 para espessura íntima-média de carótidas em crianças e adolescentes saudáveis

Percentis	EIM (mm) masculino	EIM (mm) feminino	Idade (anos)
95	0,49±0,04	0,48±0,03	10-12
5	0,48±0,55	0,44±0,52	10-12
95	0,50±0,03	0,49± 0,03	13-14
5	0,45± 0,55	0,44±0,55	13-14
95	0,49± 0,03	0,49±0,03	15-16
5	0,44±0,55	0,44±0,54	15-16
95	0,50± 0,04	0,48±0,03	17-18
5	0,43±0,57	0,44±0,52	17- 18

Baseado em Sass et al, 1998

1.3.6- Vasodilatação mediada pelo fluxo (endotélio-dependente)

É descrito que desde as lesões precoces da aterosclerose há comprometimento da integridade da função endotelial (JARVISALO et al., 2002).

A medida da FMD (vasodilatação mediada por fluxo-endotélio dependente) é um método não invasivo que pode mensurar precocemente o comprometimento arterial utilizando-se a ultrassonografia (GERMAIN et al., 2004). Ela pode ser utilizada para estratificação de risco cardiovascular e da dor torácica nos pacientes adultos e também pode ser utilizada em crianças com DM tipo I e com hipercolesterolemia para verificar o comprometimento endotelial (MOENS et al., 2005).

1.4- Dislipidemias na infância e adolescência: classificação e diagnóstico

Em crianças e adolescentes com idade entre 2 e 19 anos os critérios para a determinação do perfil lipídico segundo as recomendações das III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose são: presença de parentes de primeiro grau com aterosclerose e DAC (doença arterial precoce), parentes de primeiro grau com dislipidemia grave (colesterol total maior ou igual a 300 mg/dL ou com triglicerídeos séricos maiores do que 400 mg/dL, pancreatite aguda, xantomatose, obesidade ou com outros fatores de risco.

Segundo também esse Consenso os valores de referência do perfil lipídico em crianças são como os recomendados na tabela abaixo:

Tabela 1- Valores recomendados para o perfil lipídico em crianças e adolescentes

Lípides	Idade (anos)	Desejáveis*	Limítrofes*	Aumentados*
CT	0- 19	≤170	170-199	≥200
LDL-C	0-19	≤110	110-129	>130
HDL-C	<10	≥40		
	10-19	≥35	-	-
TG	<10	≤100		≥100
	10-19	≤130	-	≥130

Baseado Segundo o NCEP, 1992 (National Cholesterol Education Program)

Tem-se utilizado os valores de perfil lipídico em percentis e reajustados conforme a idade e sexo. Considera-se como hiperlipidemia valores de triglicerídeos ou do colesterol total plasmáticos 5% superiores aos valores do percentil 95% para idade e sexo (CISTERNAS E MONTE, 1998). Na tabela a seguir, têm-se os valores do perfil lipídico recomendado segundo os percentis.

Tabela 2- Valores percentis recomendados para o perfil lipídico em crianças e adolescentes.

Idade (anos)	n	CT (mg/dL) Percentil 5	CT (mg/dL) Média	CT (mg/dL) Percentil 95	Triglicerídeos (mg/dL) Percentil 5	Triglicerídeos (mg/dL) Média	Triglicerídeos (mg/dL) Percentil 95
0-4							
Masculino	238	114	155	203	29	56	99
Feminino	186	112	156	200	34	64	112
5-9							
Masculino	1253	121	160	203	30	56	101
Feminino	1118	126	164	205	32	60	105
10-14							
Masculino	2278	119	158	202	32	66	125
Feminino	2087	124	160	201	37	75	131
15-19							
Masculino	1980	113	150	197	37	78	148
Feminino	2079	120	158	203	39	75	132

CT= colesterol total

Baseado em Lauer et al, 1998

Os componentes do perfil lipídico estão sujeitos a variações biológicas, pré-analíticas e analíticas. Em torno de 2 anos de vida, a criança atinge os valores de colesterol séricos que devem ser mantidos na primeira década de vida (MORRISON et al., 1998). Após o período da maturação sexual o indivíduo estabelece os valores preconizados do perfil lipídico encontrado no adulto (CISTERNAS E MONTE, 1998). Observou-se que HDL-C reduz na adolescência, principalmente em meninos brancos. A HDL-C diminui significativamente em meninos entre 15 e 19 anos (LIMA et al., 2003). A LDL-C reduz na fase da maturação sexual. A VLDL-C e os triglicerídeos aumentam durante a puberdade. Os triglicerídeos séricos aumentam na segunda década de vida mais em homens do que em

mullheres. As dislipidemias podem aparecer em crianças, mas muitas das formas genéticas só se expressam na vida adulta (SCARTEZINI et al., 2003). No Brasil, existem poucos estudos sobre dislipidemias em crianças (FORTI et al., 1998).

No Brasil, em estudo realizado em crianças entre 2-19 anos, em São Paulo, Forti et al mostraram que entre estas, 27,5% e 19,3%, respectivamente, apresentaram valores de colesterol total e triglicerídeos acima do esperado. Em Campinas, Moura e Coronelli estudaram crianças na faixa etária entre 7-10 anos e aquelas com triglicerídeos acima de 200 mg/dL, 53,5 % apresentaram história familiar positiva de doença cardiovascular.

As hiperlipidemias podem ser primárias e ou secundárias conforme o quadro a seguir.

Quadro 3- Classificação etiológicas das dislipidemias

Dislipidemia	↑ de colesterol	↑ de colesteol e TG	↑ de TG
Primária	HF Defeito familiar de apoB Hipercolesterolemia poligênica	Hiperlipoproteinemia tipo III HFC	Hipertrigliceridemia Familiar Deficiência de LPL Deficiência de apo C-II
Secundária	Hipotireoidismo Síndrome nefrótica	Hipotireoidismo Síndromenefrótica Diabetes melitus	Diabetes mellitus

HF= Hipercolesterolemia familiar, HCF= Hiperlipidemia combinada familiar

Baseado em Nakandakare e Quintão 1998

As causas da hiperlipidemias podem ser por aumento de colesterol total e ou de triglicerídeos e são mostrados no quadro 3 a seguir.

Quadro 4- Classificação etiopatogênica da hipertrigliceridemia primária

Doença	Causa	Herança	Frequência	Fenótipo	Xantoma	Pancreatite
Deficiência de LPL	Deficiência de LPL	Autossômica recessiva	1:1000000	I,V	eruptivo	+
Deficiência de apo C-II	Deficiência de apo C-II	Autossômica recessiva	1:1000000	I,V	raro	+
Hipercolesterolemia familiar	Deficiência parcial ou total dos receptores de LDL	Autossômica dominante	1/500	II a	tendinoso	-
Defeito familiar de apo B100	Defeito de apo B	Autossômica dominante	1/1000	II a	tendinoso	-
Hiperlipidemia familiar combinada	Síntese aumentada de apo- B100	Autossômica dominante	1/100	II a, II b, IV	-	-
Hipertrigliceridemia familiar	Desconhecida	Autossômica dominante	1/500	IV	-	?

Baseado em Mahley et al, 2003

1.5- Hipertrigliceridemia

A hipertrigliceridemia é definida como aumento de triglicerídeos plasmáticos

Segundo o NCEP (National Cholesterol Education), 2002 os valores de triglicerídeos são classificados em:

- 1- Desejáveis < 150 mg/dL
- 2- Levemente altos 150-199 mg/dL
- 3- Altos > 200-499 mg/dL
- 4- Muito altos > 500 mg/dL

Em crianças, considera-se hipertrigliceridemia valores 5% acima do percentil 95 conforme o sexo e a idade.

A hipertrigliceridemia de causa primária é uma condição rara em crianças (DECKELBAUM et al., 1983). Os valores de triglicerídeos plasmáticos podem ser alterados por fatores como a dieta, a idade, o estilo de vida e uso de medicações (BREUER, 2001).

Vários fatores podem levar o paciente a cursar com hipertrigliceridemia como doenças renal, hepática, fibrose cística, septicemia e uso de medicamentos como estrógenos e anti-hipertensivos. As causas de hiperlipidemias secundárias mais comuns no primeiro ano de vida são a atresia de vias biliares e os erros inatos do metabolismo. Hipotireoidismo, diabetes mellitus e síndrome nefrótica são as doenças mais prevalentes mais tardiamente (DECKELBAUM et al., 1983)

A maioria dos pacientes que cursam com hipertrigliceridemia grave, ou seja, triglicerídeos séricos acima de 2000mg/dL apresentam hipertrigliceridemia familiar, hiperlipidemia familiar combinada ou hipertrigliceridemia familiar associada a uma hiperlipidemia secundária (MUSTAFA et al., 2000). Os pacientes com hiperlipidemia familiar combinada ou com hipertrigliceridemia familiar evoluem com hipertrigliceridemia moderada. Mas quando essas hiperlipidemias se associam a causas secundárias para hipertrigliceridemia (gravidez, diabetes, ingestão alcoólica e uso de estrógenos) esses indivíduos podem cursar com aumento grave de triglicerídeos (BRUNZELL e BIERMAN, 1982). Já os pacientes com hiperlipidemia secundária como por hipotireoidismo, obesidade e uremia quando são associados a alguma forma de hipertrigliceridemia familiar raramente cursam com hipertrigliceridemia grave (GINSBERG, 1998).

As causas genéticas que cursam com hipertrigliceridemia grave são deficiência de LPL, a deficiência familiar de apo C-II e presença do inibidor de LPL (THOMPSON, 1990).

1.5.1- Deficiência de LPL

A LPL é uma glicoproteína de 55 Kda. A primeira descrição da lipoproteína lipase foi descrita em 1943 por Paul Hahn (REINA et al., 1992).

A LPL é membro da superfamília das lipases as quais incluem lipase hepática e lipase pancreática (HENDERSON et al., 1993). A lipoproteína lipase apresenta-se estruturalmente como um dímero.

Ela possui duas regiões: a porção amino, com resíduos de 1-312 e a região carboxi que é constituída dos resíduos 313-448 (MURTHY et al., 1996). Essas regiões são interligadas por um peptídeo. A primeira região é a responsável pela porção catalítica e a outra é a região na qual a lipoproteína interliga-se ao substrato. O passo inicial para a síntese da LPL envolve sua transcrição no parênquima do tecido que o expressa e após ela é translocada no retículo endoplasmático rugoso e transportada para o Complexo de Golgi e ligada ao endotélio vascular.

É uma enzima chave no metabolismo das lipoproteínas (FONSECA et al., 1998). A lipoproteína lipase é sintetizada no parênquima do tecido adiposo, coronário e muscular e é transportada para o lúmen do endotélio vascular. Ela também é sintetizada no período fetal pelo tecido hepático, mas após a sua produção é suprimida. Na presença de seu cofator positivo a apo C-II, a LPL hidrolisa triglicerídeos em monoglicerídeos, diglicerídeos e ácidos graxos (EVANS et al., 2002).

O gene da LPL está localizado no braço curto do cromossomo 8 (TORNIVALL et al., 1995) e contém 10 exons.

Vários fatores regulam a expressão da LPL como a ação hormonal de insulina, glicocorticóides e a adrenalina.

A deficiência da LPL é uma doença autossômica recessiva (Ng et al., 2001) e é caracterizada por hipertrigliceridemia maciça, aumento de quilomicrons e de VLDL. Esta doença acomete geralmente crianças antes dos 10 anos de idade (THOMPSON, 1990).

A incidência da deficiência da LPL é estimada em 1 para cada milhão de indivíduos, mas na população de Quebec (Canadá) esta incidência é maior, ou seja, acomete 1:10.000 indivíduos. Os pacientes com hiperquilomicronemia tipo I são descritos na Europa, nos EUA e no Japão. Raramente há casos descritos de hiperlipoproteinemia tipo I na China (BERGERON et al., 1992).

Os pacientes podem apresentar dor abdominal recorrente, pancreatite aguda, hepatoesplenomegalia, xantomas eruptivos e lipemia retinalis (GOLDBERG et al., 2002).

A dor abdominal pode ser a manifestação clínica inicial e pode apresentar-se como cólica no primeiro ano de vida. A pancreatite aguda ocorre geralmente quando os níveis de triglicerídeos estão acima de 2000 mg/dL (NAKANDAKARE E QUINTAO, 1998). A incidência de pancreatite em crianças é desconhecida. As causas podem apresentar várias etiologias (idiopáticas 22%, por trauma 20%, infecções 15%, doenças do trato biliar 14%, uso de drogas 13%, doenças congênitas 5%, doenças hereditárias e doenças metabólicas (WALRAEN, 2003).

Têm sido descritas histórias de aterosclerose prematura nesses pacientes com deficiência de LPL e isso sugere que os quilomicrons remanescentes são aterogênicos. (THOMPSON, 1993).

O diagnóstico da deficiência da LPL é realizado pela medida da atividade da LPL ou pela massa da lipoproteína lipase. O primeiro não é realizado rotineiramente, pois requer a administração endovenosa de heparina e envolve método radiométrico. A LPL massa reflete o nível sistêmico de síntese de LPL, ao contrário da atividade da LPL pós-heparina que só detecta a atividade catalítica da proteína LPL (WATANABE et al, 2000). A administração endovenosa de heparina promove o deslocamento da lipoproteína lipase do endotélio capilar. Alguns trabalhos demonstram que a massa de LPL apresenta uma correlação inversa com a trigliceridemia ou com HDL-C.

In vivo, a dosagem da atividade da LPL é o procedimento de escolha para o diagnóstico da deficiência da LPL, mas esta atividade decresce rapidamente à temperatura ambiente. O estudo da massa da LPL parece solucionar este problema. Também ainda é controversa a dose de heparina que deve ser injetada intravenosamente para se obter o valor máximo de LPL massa ou atividade pós-heparina.

Este exame é contra-indicado em pacientes com retinopatia diabética ou com úlcera péptica pelo risco da heparina promover sangramentos (TORNIVALL et al., 1995).

O tratamento da deficiência da LPL é dietético, ou seja, usa-se dieta restrita de gordura (menos do que 20 g/dia).

Várias mutações do gene da lipoproteína lipase têm sido identificadas relacionadas à deficiência de LPL. A maioria das mutações relacionadas à LPL estão no exons 4, 5 e 6. A frequência das mutações difere muito entre populações (MAILLY et al., 1995).

Tabela 3- Principais mutações do gene da lipoproteína lipase

Mutação	Localização	Atividade da LPL	Lipídeos	DAC	Quadro clínico	Frequência	Peculiaridades
Gly188Glu	Exon 5	↓	↑TG ↓HDL	↑↑	Xantomas, pancreatite	0,06% da população geral	-
Asp9Asn	Exon 2	↓ 20% da atividade	↑TG ↓HDL	↑	Em heterozigotos xantomas e pancreatite aguda	1,5% na população caucasiana	↑ risco de DAC quando associado a mutação 93→G
Asn291Ser	Exon 6	↓	↑TG ↓HDL	? ↑	Hipertensão arterial	2-5% na população caucasiana	
-93→G	promotor	↓	?	?	Xantomas e pancreatite	76% no sul da África	
Ala221 del	Exon 5	↓	↑TG ↓HDL	?	Xantomas, pancreatite	?	
Ser447stop	Exon 9	↑	↓TG ↑HDL	↓	Infarto agudo do miocárdio	20% da população geral	

Baseado em Merkel et al, 2002

Muitas mutações relacionadas à LPL são raras e muitas delas estão restritas a algumas famílias ou a uma determinada região geográfica.

Na população caucasiana, as mutações mais prevalentes relacionadas a diminuição da atividade da LPL são: à Asn291Ser que é a mais prevalente e encontrada entre 2 a 5% (MINNICH et al., 1995).

Nos caucasianos, a mutação Asp9Asn é encontrada em 1,5% e a Gly188Glu em 0,06%. Na população francesa no Canadá 17% das mutações são Pro207Leu, Gly188Glu e Asp250Asn (MAILLY et al., 1995).

Mutação Gly188Glu

É a mutação mais frequentemente (ETIENE, 1984) encontrada na população geral e no Quebec (Canadá). A maior parte das mutações foi encontrada no exon 5 e 6 (GILBERT et al., 2001). Os pacientes heterozigotos têm moderada elevação de triglicerídeos e têm predisposição para aterosclerose (WILSON et al., 1990). Segundo alguns estudos, esta mutação aumenta cinco vezes o risco de o indivíduo evoluir com doença arterial coronariana (WILSON et al., 1990). A presença de fatores como diabetes mellitus, hipertensão arterial coronariana, Lp(a) aumentada e a obesidade e o genótipo E4 aumentam o risco do paciente evoluir com doença arterial coronariana (BERGERON et al., 1992).

Mutação Asn291Ser

É a mutação mais prevalente na população caucasiana e diminui a atividade da LPL. Na população geral, essa mutação não aumenta o risco de doença cardiovascular; entretanto, em pacientes com hipercolesterolemia familiar combinada aumenta-se o risco de doença cardiovascular em três vezes (HOKANSON, 1990).

Asp9Asn

Os pacientes homozigotos para esta mutação não apresentam hipertrigliceridemia, pois há somente 20% de diminuição da atividade da LPL (ETIENE, 1984).

Ser 447stop

É encontrada em 20% da população geral. É uma variante associada ao aumento da atividade da LPL. Está relacionado ao aumento de 0,8 vezes o risco de doença coronariana (HOKANSON, 1990).

Ala221

No Japão, a mutação mais prevalente relacionada a diminuição da atividade da LPL é Ala221, que é chamada LPL “Arita”(GILBERT, 2001).

T93G

A mutação T93G foi encontrada em 76,4% da população negra do sul da África e sua incidência é de 1,7% entre caucasianos (BEHREN et al, 1997).

D174V

Abifadel et al., descreveram uma nova mutação no gen da lipoproteína lipase e que situava no códon 174. Os pacientes descritos apresentavam hiperquilomicronemia.

1.5.2- Deficiência familiar de apo C-II

É uma doença autossômica recessiva que cursa com hipertrigliceridemia. No quadro clínico os pacientes apresentam xantomas, hepatoesplenomegalia, lipemia retinalis e pancreatite aguda. O diagnóstico pode ser realizado pela ausência de apo C-II e confirmado pela diminuição da atividade da LPL pós-heparina. Os pacientes homozigotos para a deficiência de apo C-II não apresentam risco para doença aterosclerótica.

Os indivíduos heterozigotos para deficiência de apoC-II apresentam perfil lipídico não alterado, mas quando associam com apo E-4 evoluem com hipertrigliceridemia. O tratamento é basicamente a restrição na dieta de gordura.

1.5.3- Inibidor de LPL

É uma patologia de causa desconhecida. É uma doença autossômica dominante e a atividade pós-heparina está diminuída (BRUNELL e BIERMAN, 1982).

1.5.4- Hipertrigliceridemia familiar

É uma doença autossômica dominante. Há defeito no catabolismo da VLDL e situações como a resistência insulínica pode promover o aumento da produção desta. Os pacientes apresentam aumento de triglicerídeos. Esses pacientes podem apresentar triglicerídeos e VLDL-C séricos moderadamente aumentados. Tanto LDL-C como

HDL-C podem estar diminuídos. A hipertrigliceridemia acima de 1000mg/dL ocorre raramente nessa patologia. Quando isso ocorre, geralmente, está associada a situações como obesidade, etilismo, diabetes mellitus, hiperuricemia e uso de diuréticos tiazídicos, beta-bloqueadores. Deve ser diferenciada da hiperlipidemia familiar combinada (VILAR et al., 2001).

Sua incidência na população geral é de cerca de 1:500. Os pacientes que apresentam HDL-C reduzido apresentam risco coronariano maior em comparação àqueles que apresentam valores não alterados (GREENSPAN et al., 2000).

1.5.5- Hiperlipidemia familiar combinada

É considerada a forma mais comum de hiperlipidemia. Acomete cerca de 1 para 200 a 300 indivíduos na população geral (BRICARELLO et al., 1999). Sabe-se que esses pacientes apresentam risco coronariano aumentado antes dos 60 anos. Cursam com elevação moderada de LDL-C, triglicerídeos e diminuição de HDL-C. A fisiopatologia desta patologia pode ser por aumento da produção da apoB e VLDL-C. Sendo assim, estes pacientes podem apresentar aumento de VLDL e ou aumento de LDL. O padrão fenotípico pode alterar-se com o tempo. Há expressão da xantelasmas, mas clinicamente não apresentam xantomas (VILAR et al., 2001). É uma patologia autossômica dominante.

2- OBJETIVOS

2.1- Capítulo 1

Estabelecer a prevalência de dislipidemias em uma amostra populacional ambulatorial de crianças e adolescentes de Campinas e região, atendidos no Hospital de Clínicas da Unicamp;

2.2- Capítulos 2 e 3

Investigar casos de hipertrigliceridemia grave na infância e adolescência procurando suas causas genéticas;

Avaliar a presença de repercussões pró-aterogênicas da hipertrigliceridemia grave nos indivíduos estudados.

3- SUJEITOS E MÉTODOS

3.1- Casuística

Todos os procedimentos adotados neste estudo estão em acordo com o comitê de ética da Faculdade de Medicina da Unicamp (CONEP registro 650/2004).

No trabalho populacional realizou-se um estudo retrospectivo de avaliação dos resultados de exames laboratoriais que compunham o perfil lipídico (Colesterol total (C), (HDL-c), LDL-C e Triglicérides (TG) de crianças e adolescentes ambulatoriais atendidos em um pólo de referência no atendimento médico-hospitalar no interior do Estado de São Paulo (Hospital de Clínicas da Unicamp) para onde também se dirigem indivíduos de estados vizinhos, durante 4 anos, de 2000 a 2003. O banco de dados foi gerado no programa de base de dados do Sistema Informatizado do Hospital de Clínicas da Unicamp desenvolvido pelo Núcleo de Informática. A população estudada compreendeu indivíduos de ambos os sexos e idades de 1 dia a 19 anos. Foi considerado apenas o primeiro resultado do ano do perfil lipídico para cada paciente por exame por ano. Separou-se também subpopulações de crianças (1 dia a 12 anos) e adolescentes (13-19 anos) e por sexo.

Nos relatos de casos os pacientes que apresentavam hipertrigliceridemia grave (triglicerídeos séricos 5% acima do percentil 95 conforme o sexo e a idade) foram selecionados entre crianças e adolescentes na faixa etária entre 5 meses e 15 anos. Todos foram provenientes do Ambulatório de Dislipidemias do Hospital de Clínicas da Unicamp e do Ambulatório de Hepatopediatria e Endocrinopediatria da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. Todo representante legal da criança e adolescente assinou um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para permitir a participação de seu filho(a) no estudo.

Os critérios utilizados para exclusão de pacientes neste estudo foram aqueles que apresentavam hipertrigliceridemia por causas secundárias como: nefropatas, hepatopatas, diabéticos, hipotireóides e aqueles que utilizavam medicamentos como estrógenos e corticóides.

Foi aplicado um questionário que continha identificação do paciente como nome, número de registro hospitalar, idade, raça, sexo, cor, nomes dos pais ou do representante legal da criança ou do adolescente, endereço e telefone. Realizou-se também

uma investigação sobre os períodos pré e pós-natal, a dieta e foi realizada uma investigação sobre a história familiar de doença cardiovascular prematura. Realizou-se também o exame físico segmentar.

Abaixo descrevem-se algumas características dos pacientes selecionados:

- 1) Um menino de 9 anos, atendido no Ambulatório de Dislipidemias do Hospital de Clínicas da Unicamp, desde os 5 meses por quadro de hipertrigliceridemia grave.
- 2) Um adolescente masculino de 15 anos, atendido no Ambulatório de Dislipidemias do Hospital de Clínicas da Unicamp, desde os 9 meses, por quadro de hipertrigliceridemia.
- 3) Um menino de 3 anos, atendido na Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, desde 1 mês de vida com quadro de hipertrigliceridemia grave.

3.2- Desenho experimental

Todo o procedimento de coleta de material sanguíneo foi realizado no Setor de Coleta da Divisão de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas. A punção endovenosa para a extração de soro e ou plasma foi realizada com o paciente em jejum de 12 horas. Foram obtidos em uma primeira etapa 10 ml de sangue, em uma segunda etapa 04 ml de sangue, após a administração de heparina na dose de 100 U.I/kg de peso, endovenosamente, para determinação das atividades da lipase hepática e lipoproteína lipase. Obtidos também 04 ml de sangue da criança e dos pais e irmãos(ãs) e condicionado em frasco com EDTA 1mM (10 ML por ml de amostra) para as análises moleculares. Uma parte do material coletado foi submetido imediatamente às análises laboratoriais na Seção de Bioquímica do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas e a outra parte foi armazenada a – 20°C para análises posteriores no Laboratório de Lípidos da Universidade Estadual de Campinas, sob supervisão da Dra. Eliana Cotta de Faria. O estudo molecular foi realizado no Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, sob a supervisão do Dr. Roberto Schreiber e com apoio da professora Helena C.F. Oliveira.

Nos ambulatórios de Dislipidemias do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas, no ambulatório de Hepatopediatria e Endocrinopediatria da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo e o representante legal do paciente foi submetido a um questionário. Realizado também um exame físico do paciente.

3.3- Análises bioquímicas séricas

As dosagens séricas de aspartato e alanina aminotransferase, gama glutamiltransferase, glicose, colesterol total e triacilglicerol foram realizadas pelos métodos enzimáticos-colorimétricos em analisador automático Hitachi 917/Roche (Mannheinn, Alemanha).

A LDL-C foi obtida por método homogêneo colorimétrico-enzimático em analisador químico automático BM Hitachi 917/ Roche (Mainnhein, Alemanha).

As apolipoproteínas apo A1, apo B100 e Lp(a) foram obtidas por nefelometria por reações imunoquímicas em equipamentos BNII/Marburg (Alemanha), utilizando reagentes Dade-Boehringer® (Manheinn, Alemanha).

3.4- LDL-oxidada

Os anticorpos contra-LDL oxidada (anti-LDL-oxidada) foram mensurados pelo método Elisa. As amostras de soro foram incubadas a 4°C durante 18 horas em microplacas contendo LDL oxidada *in vitro*. Após estas microplacas serem lavadas com tampão PBS foi adicionado leite desnatado por 2 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 durante 01 hora com subsequente lavagem. Adicionou-se à placa para a revelação uma mistura de tetrametilbenzidina em DMSO (6,5%), citrato de sódio (pH= 5,5) e água oxigenada a 30% por 07 minutos. A concentração do anticorpo anti-LDL oxidada foi calculada conforme a equação abaixo:

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

3.5- Atividade da lipoproteína lipase

As atividades da lipoproteína lipase e da lipase hepática foram mensuradas por método radiométrico pela liberação de ácidos graxos livres da hidrólise de substrato artificial de trioleína triciada. O substrato foi preparado pela adição da trioleína fria [(1,2, 3[cis- 9- octadecenoleoil]glicerol)] (Sigma, St Louis, MO , EUA), trioleína radiotiva ([9,10 ^H (N)- trioleína], estabilizadas por uma solução de goma arábica a 5% (Sigma, St Louis, MO, EUA). Após a sonificação foi acrescentada albumina bovina sérica livre de ácidos graxos a 10% (Sigma, St Louis, MO, EUA) para quelar ácidos graxos livres. Com o objetivo de inibir a LPL plasmática adicionou-se 2 M NaCl na solução tampão nas amostras onde se determinou a atividade da LH.

A reação foi incubada por 60 minutos a 37 graus Celsius e interrompida com a adição de 715µL de uma solução de metanol: clorofórmio; heptano (1,41: 1,25: 1; V/V/V) e 165µL de uma solução de K₂CO₃/H₃BO₃ (pH=10,5). A radiatividade foi determinada num contador de cintilação líquida modelo LS-5000 (Beckman Instruments, Palo Alto, EUA). A atividade da LPL foi calculada pela diferença entre as atividades da lipase total e da LH e expressas como nanomol e de ácidos graxos liberados por hora, por ml de plasma.

3.6- Extração de DNA e reação em cadeia da polimerase (PCR)

Foi coletado sangue total do paciente e condicionado o material em tubo de ensaio contendo EDTA (10%, 0,1mL).

Adicionou-se a 300 µL de sangue total e iodeto de sódio 6M em igual volume. Essa mistura foi homogeneizada em agitador de tubos por 20 segundos. Após acrescentou-se 600 µL de clorofórmio/álcool isoamílico (v/v, 4:1) para a obtenção de proteínas e debris celulares. A seguir esse material foi homogeneizado em agitador de tubos por 20 segundos e centrifugou-se a 12.000 rpm (10.700 x g) por 05 minutos. Removeu-se a parte aquosa (parte superior). Adicionou-se ao restante do material 400 µL de isopropanol gelado e incubou-se por 03 minutos para se obter a precipitação de DNA genômico. Após centrifugou-se a 12.000 rpm (10700 x g) por 05 minutos à temperatura ambiente, e o sobrenadante foi descartado.

O sedimento foi lavado com álcool isopropílico a 37% e centrifugado à temperatura ambiente, a 12.000 rpm por 05 minutos e o sobrenadante foi descartado. O precipitado de DNA foi secado à temperatura ambiente e ressuspendido em 100 µL de tampão TBE pH 8,0 (Tris- HCl 10 Mm, EDTA 0,1 mM) e este material foi incubado por 10 minutos a 56 graus Celsius e armazenado a – 20°C.

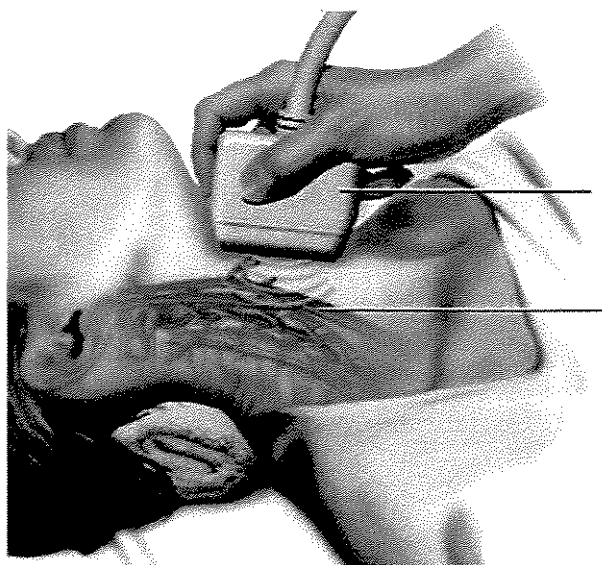
A integridade das moléculas de DNA foi verificada por eletroforese em gel de agarose a 1% em tampão TBE (Tris 90Mm, ácido bórico 90 Mm e EDTA 2 mM) e corada em brometo etídeo (0,5µg/mL). A separação eletroforética foi realizada a 100 V por 45 minutos e a visualização das bandas de DNA em transiluminador sob a luz ultravioleta.

O DNA genômico de cada indivíduo (0,5-1 ug) foi amplificado por reação em cadeia de polimerase.

3.7- Ultrassonografia para medida da espessura íntima-média das carótidas

Foi realizada a medida da espessura da íntima-média da carótida em uma clínica de radiologia. Todo o estudo foi realizado por um radiologista.

Procedimento: posicionou-se o paciente em decúbito ventral no leito e a região cervical foi colocada em posição supina utilizando um coxim. Para mensurar a espessura da íntima-média da artéria carótida foi utilizado um transdutor de 7-13 MHz, Bothell, USA. Inicialmente a artéria carótida foi visualizada a 1-2 cm da região proximal do bulbo. Toda imagem no final da diástole e coincidente com a onda R do eletrocardiograma foi capturada. As imagens obtidas foram da parede posterior da artéria e os ângulos utilizados foram oblíqua anterior e lateral. Toda a imagem foi arquivada e depois foram analisadas utilizando um *software* próprio (JARVISALO et al., 2002).

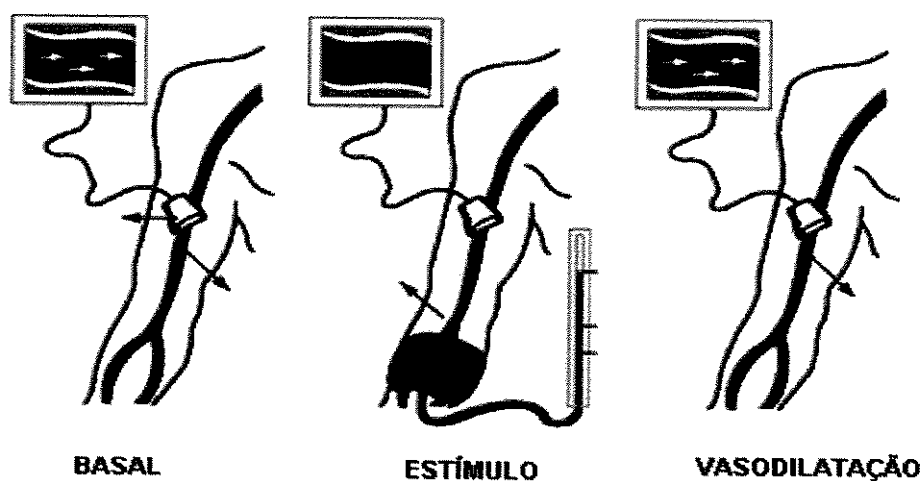


Disponível em: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/imagespages/1805.htm>.

Figura 3- Medida da espessura da íntima-média da artéria

3.8- Vasodilatação arterial mediada pelo fluxo ou endotélio dependente (FMD)

O estudo da FMD foi realizado em uma sala a 22 graus Celsius com o paciente em jejum de 12 horas. O procedimento foi realizado entre 07 e 09 horas da manhã. O exame foi realizado com o paciente em decúbito dorsal e com membro superior em extensão. Foi colocado um manguito de 12 x 44,5 cm a 5 cm da fossa cubital para realizar um torniquete. O paciente foi submetido a uma pressão de 250 mmHg durante 05 minutos. Foi mensurado o diâmetro da artéria braquial durante o repouso e durante a pressão exercida pelo manguito. O transdutor utilizado foi de 7-13 MHz. Toda a imagem foi armazenada para após se realizar a medida conforme o *software* próprio. Também foi mensurada a vasodilatação máxima em comparação ao basal (FMD em %) e à área acima da curva (resposta total da vasodilatação).



Baseado em Germain et al., 2004

Figura 4- Protocolo para mensurar FMD

3.9- Análises estatísticas

A amostragem foi consecutiva. Análises estatísticas paramétricas foram realizadas utilizando-se o programa SPSS. Utilizou-se para as comparações os testes Anova monofatorial (diferenças entre grupos e anos) e o teste “t” (diferenças entre os sexos).

Considerou-se significativos valores de $p \leq 0,05$.

4- RESULTADOS

Apresentam-se os resultados dos manuscritos referentes ao trabalho em amostra populacional e aos 3 estudos de casos:

4.1- Capítulo 1: Trabalho Científico 1

4.2- Capítulo 2: Caso Clínico 1 (relato do caso do paciente 1)

4.3- Capítulo 3: Caso Clínico 2 (relato dos casos dos pacientes 2 e 3)

4.1- Capítulo 1 (Trabalho Científico 1: estudo populacional)

PERFIL LIPÍDICO DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES AMBULATORIAIS EM HOSPITAL ESTADUAL PAULISTA DE REFERÊNCIA

(submetido ao Jornal de Pediatria)

4.1- Capítulo 1 (Trabalho Científico 1: estudo populacional)

PERFIL LIPÍDICO DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES AMBULATORIAIS EM HOSPITAL ESTADUAL PAULISTA DE REFERÊNCIA (submetido ao Jornal de Pediatria)

Autores: Raquel Tiemi Takata, Fabio Bernardi Dalpino, Vera Castanho e Eliana Cotta de Faria

Instituição: Departamento de Patologia Clínica, Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental e Ambulatório de Dislipidemias (HC) da Faculdade de Ciências Médicas, Universidade de Campinas (Unicamp). Caixa Postal 6111, CEP 13083-970 - Campinas - São Paulo - Brasil

Autora para correspondência: Profa. Dra. Eliana Cotta de Faria

Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas, Unicamp. Caixa Postal 6111, CEP 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

Tel: 19 37887064; Fax: 19 37889434.

email: cotta@fcm.Unicamp.br

RESUMO

Objetivos: O processo aterosclerótico inicia-se na infância, progredindo significativamente a partir da terceira década de vida. O objetivo deste estudo foi o de se estabelecer a frequência de diferentes tipos de dislipidemias em uma população brasileira ambulatorial hospitalar (crianças e adolescentes) num período de três anos.

Sujeitos: Realizou-se um estudo retrospectivo de análise do perfil lipídico de 2.031 indivíduos, de ambos os sexos, com idades entre 1 dia e 19 anos, registrados no Hospital Universitário da Universidade Estadual de Campinas, um pólo de referência no atendimento médico hospitalar no Estado de São Paulo, Brasil durante os anos de 2000 a 2003. Os valores de referência adotados são os recomendados por Kwiterovich: Colesterol (<170 mg/dL), LDL-Colesterol (<110mg/dL), HDL-Colesterol (>45mg/dL) e Triglicérides (<75mg/dL, abaixo de 12 anos e <90mg/dL, entre 13 e 19 anos). Análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SPSS.

Resultados: Valores alterados de Colesterol, LDL-Colesterol e Triglicérides foram encontrados em 46%, 37% e 59% das crianças (1 dia-12a) e em 42%, 35% e 46% dos adolescentes (13-19a), respectivamente; 46% das crianças e 50% dos adolescentes apresentaram valores reduzidos de HDL-Colesterol. Hipercolesterolemia combinada com hipertrigliceridemia estavam presentes em 35% e 32% das crianças e adolescentes, respectivamente; hipercolesterolemia combinada com hipoalfalipoproteinemia em 18% e 20% e hipertrigliceridemia e hipoalfalipoproteinemia em 34% e 29%.

Conclusão: Este estudo, utilizando-se de uma análise retrospectiva demonstrou que a frequência das dislipidemias em crianças e adolescentes ambulatoriais é alta sugerindo um possível sério problema de saúde pública na região e no país, sendo entretanto necessário estudos em outras comunidades não ambulatoriais, para a melhor definição da situação e para a prevenção das doenças cardiovasculares.

Palavra chave: perfil lipídico, dislipidemias, aterosclerose, crianças e adolescentes.

ABSTRACT

Objective: Atherogenesis begins in the childhood, progressing significantly from the third decade of life on. The aim of this study was to establish, the frequencies of different types of dyslipidemia in a Brazilian outpatient population (children and adolescents) over a period of 3 years.

Methods: Lipid profiles of 2,031 individuals from both sexes, aged from 1 day to 19 years and registered at the University Hospital, State University of Campinas, a reference pole in the medical-hospital attendance in the state of São Paulo, Brazil, were retrospectively analyzed from 2000 to 2003. The reference values adopted were those recommended by Kwiterovich: Cholesterol (<170mg/dL), LDL-Cholesterol (<110mg/dL), HDL-Cholesterol (>45mg/dL) and triglycerides (<75mg/dL, below 12 years and <90mg/dL, between 13 and 19 years). Statistical analyses were carried out using the SPSS program.

Results: Altered Cholesterol, LDL-Cholesterol and triglycerides were found in 46%, 37% and 59% of the children (0-12y) and in 42%, 35% and 46% of adolescents (13-19y) respectively; 46% of children and 50% of adolescents presented undesirable low HDL-Cholesterol. In children and adolescents respectively combined hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia were present in 35% and 32% (most prevalent); combined hypercholesterolemia and hypoalphalipoproteinemia in 18% and 20% and combined hypertriglyceridemia and hypoalphalipoproteinemia in 34% and 29%.

Conclusion: This study, using an economic retrospective approach, demonstrated that dyslipidemia in young age is a serious public health problem in Brazil and it also suggest that surveys in other communities to prevent cardiovascular diseases, are needed.

Keywords: plasma lipid profile, dyslipidemia, atherosclerosis, children and adolescents.

INTRODUÇÃO

Estudos epidemiológicos demonstram uma redução nas taxas de morbimortalidade por doença arterial coronariana (DAC) tanto em países desenvolvidos quanto nos em desenvolvimento (1,2). Apesar disso, a DAC ainda é a principal causa de morbimortalidade no Brasil (3).

Como a prevalência e o custo gerado por estas doenças são muito altos, a aterosclerose é intensamente estudada em todo o mundo com o intuito de se compreender seus mecanismos fisiopatológicos e desencadear medidas preventivas para o seu controle (4).

Em geral as manifestações clínicas da DAC iniciam-se na idade adulta. Entretanto diversos estudos têm demonstrado que o processo aterosclerótico na camada íntima arterial surge na infância de forma silenciosa, progredindo significativamente a partir da terceira década de vida (5-7). As dislipidemias, um dos fatores de risco mais importantes para o desenvolvimento da aterosclerose e de suas complicações, tem sido cada vez mais objeto de estudo em crianças e adolescentes. Isto se dá tanto pela alta prevalência encontrada nesta faixa etária quanto pela identificação de que a colesterolemia na infância é um preditor do perfil lipídico na idade adulta (6,8).

Estudos americanos apontam que 25% das crianças apresentam colesterolemia acima de 170mg/dL e no Brasil alguns trabalhos também encontraram esta alta prevalência, como o de Gerber e Zielinsky com 28% de colesterol alto em crianças de 6 a 14 anos e Moura et al na cidade de Campinas com 35% dos escolares com algum nível de hipercolesterolemia (7,8).

Portanto a análise do perfil lipídico sérico é indispensável no diagnóstico das dislipidemias e para a prevenção primária de DAC (9). Para tanto, existem consensos internacionais, como o National Cholesterol Education Program (NCEP) (10), realizados com o intuito de se estabelecerem medidas profiláticas para a doença e formas de tratamento adequadas. As III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias (III DBSD) (11) adotam os valores recomendados pelo próprio NCEP.

São poucos os estudos realizados no nosso país (12-15) com o intuito de estabelecer o perfil lipídico de crianças e adolescentes, mas os que existem demonstraram grande proporção de indivíduos com níveis de colesterol acima do recomendado.

Com o objetivo de conhecer a prevalência de dislipidemias numa população ambulatorial hospitalar de crianças e adolescentes no Estado de São Paulo, estabelecemos os intervalos de referência interpercentis para lipoproteínas e lípides plasmáticos.

SUJEITOS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo retrospectivo que durou 4 anos, de 2000 a 2003, e que envolveu crianças e adolescentes de ambos os sexos e com idades entre 0 a 19 anos.

Foram avaliados resultados de exames laboratoriais que compõem o perfil lipídico (Colesterol (C), HDL-Colesterol (HDL-C), LDL-Colesterol (LDL-C) e Triglicérides (TG)) de crianças e adolescentes atendidos ambulatorialmente em um pólo de referência no atendimento médico-hospitalar no interior do Estado de São Paulo, o Hospital de Clínicas (HC/Unicamp), Campinas para onde também se dirigem indivíduos de estados vizinhos.

As amostras sanguíneas foram obtidas por punção venosa no período da manhã (7-9h) em tubos secos de vidro estéreis sob vácuo (Vacutainer, Beckton&Dickinson), após 10-12 horas de jejum. O soro foi separado do sangue total por centrifugação refrigerada de baixa rotação e dentro de 2 horas após a coleta encaminhado às análises.

Os exames foram realizados na Seção de Bioquímica Clínica do HC em analisadores químicos automáticos Hitachi-917 (Roche), sob condições padronizadas e os métodos utilizados para as dosagens seguiram as instruções do fabricante. Materiais controle (Precinorm e Precipath, Roche) foram sistematicamente utilizados para a determinação da variabilidade analítica e manutenção da acurácia.

Para a dosagem do colesterol foi utilizado método enzimático colorimétrico (CHOD-PAP-Roche); o LDL-Colesterol foi obtido por método direto (Roche) e para o HDL-Colesterol utilizamos um método homogêneo direto, sem precipitação (HDL-Col-Roche). Analisou-se triglicérides utilizando-se um método enzimático-colorimétrico (GPO-PAP-Roche).

Todos os procedimentos adotados estão em acordo com o comitê de ética da Faculdade de Medicina da Unicamp.

O conjunto de resultados de exames deste estudo foi gerado no programa de base de dados do Sistema Informatizado do Hospital de Clínicas da Unicamp, desenvolvido pelo Núcleo de Informática do HC. Posteriormente, estes dados foram transferidos para o

programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, USA.) e para o Microsoft Excel 98 e se constituem na sua totalidade de: 3.059 dosagens de C, 2.699 de HDL-C, 2.572 de LDL-C e 2.975 de TG, num total de 11.305 dosagens. Informações sobre a identificação hospitalar, sexo, idade e data da coleta também constam deste banco de dados.

A frequência de dislipidemias foi calculada com base no número de participantes em cada grupo: 2.031 na população total, 914 no sexo masculino, 1.117 no sexo feminino, 993 de 1 dia a 12 anos e 1.038 de 13 a 19 anos. Os valores de corte utilizados foram os recomendados por Kwiterovich (16) e para os parâmetros bioquímicos analisados são: C <170mg/dL, HDL-C >45mg/dL, LDL-C <110mg/dL e TG <75mg/dL até 10 anos e <90mg/dL entre 10 e 19 anos. Estudaram-se apenas pacientes ambulatoriais e considerou-se um só resultado do exame por ano para cada paciente. Separaram-se grupos: crianças (0-12 anos), adolescentes (13-19 anos) e por sexo.

Análises estatísticas paramétricas foram realizadas utilizando-se o programa SPSS.

RESULTADOS

Ao longo dos quatro anos estudados foram realizados 11.305 testes laboratoriais, sendo 3.059 referentes a C, 2.699 a HDL-C, 2.572 a LDL-C e 2.975 a TG, num total de 2.031 participantes. A idade média geral foi 12 (± 5) anos, sendo 45% do sexo masculino (M) e 55% do sexo feminino (F).

O coeficiente de variação (CV) inter-ensaios dos materiais controle utilizados no período foram: 1,89 e 1,78% para o C, respectivamente para controle não alterado e patológico; 3,46 e 2,41%, respectivamente para o HDL-C e LDL-C onde foi utilizado apenas o controle não alterado; e 1,89 e 3,02%, respectivamente para controles não alterado e patológico para o TG. Estas variações estão abaixo do erro total recomendado pelo NCEP (17,18), que é de no máximo 8.9% para C, 13% para HDL-C, 12% para LDL-C e 15% para TG.

As concentrações médias dos parâmetros analisados foram: 178 (± 74)mg/dL para C, 48 (± 15)mg/dL para HDL-C, 108 (± 55)mg/dL para LDL-C, e 120 (± 152)mg/dL para TG.

As concentrações séricas de C e LDL-C apresentaram redução significativa ao longo dos 4 anos (Figura 1). Para o C houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as concentrações séricas médias de 2003 e as dos demais anos e para o LDL-C a diferença ocorreu entre 2003 comparado a 2000 e 2001. Não houve redução significativa nas concentrações séricas do HDL-C e TG.

Analisando os dados segundo o sexo, o HDL-C apresentou valores médios nos 4 anos mais elevados no sexo feminino e o TG no sexo masculino. C e LDL-C não variaram segundo o sexo (Figura 2).

Com exceção do HDL-C, que não sofreu variação com a idade, todos os outros analitos apresentaram uma redução significativa nos seus valores séricos médios comparando-se as faixas etárias 1 dia a 12 anos versus 13-19 anos (Figura 3).

A tabela 1 apresenta intervalos interpercentis para C, HDL-C, LDL-C e TG observados na população total, assim como por sexo e faixa etária.

Na tabela 2 são mostradas as frequências de dislipidemias ao longo dos 4 anos para a população total, ambos os sexos e diferentes faixas etárias. A mais frequente na população total, no sexo feminino e na faixa entre 1 dia a 12 anos foi a hipertrigliceridemia. No sexo masculino e entre 13 a 19 anos predominou hipoalfalipoproteinemia.

A tabela 3 mostra a frequência de dislipidemias mistas: C e TG aumentados foram encontrados em 685 indivíduos ao longo dos 4 anos, 33,7% da população total; C alto e HDL-C baixo ocorreu em 380 participantes, 18,7% da população total; TG alto e HDL-C baixo ocorreu em 643 participantes, 31,6% da população total. No sexo masculino predominaram as dislipidemias mistas TG alto e HDL-C baixo e no sexo feminino C e TG altos. Em ambas as faixas etárias a mais frequente foi C e TG altos.

DISCUSSÃO

No Brasil, de acordo com dados do Sistema Único de Saúde (SUS) (19), as doenças do aparelho circulatório representam 27,4% de todas as causas de morte para todas as idades, sendo que 6,3% são por infarto agudo do miocárdio (IAM). Estes dados são muito semelhantes aos encontrados no Estado de São Paulo, onde 7,45% das pessoas morrem por IAM.

Nos EUA as mortes secundárias a DAC estão caindo aproximadamente 3% ao ano. No Brasil esta taxa está em torno de 2% ao ano (1). Apesar disso, que em parte se deve aos novos tratamentos disponíveis no mercado e às mudanças nos hábitos de vida, este problema está longe de ser solucionado.

Como diversos estudos têm demonstrado que o processo aterosclerótico inicia-se já na infância, é importante estabelecermos a prevalência de dislipidemias nesta faixa etária, pois este é um dos principais fatores de risco para o surgimento das estrias gordurosas na camada íntima das artérias no desenvolvimento da aterosclerose (6).

O objetivo deste trabalho foi o de se estudar uma população atendida ambulatorialmente num pólo de referência médico-hospitalar do interior do Estado de São Paulo - Brasil, composta por diferentes classes sócio-econômicas e culturais. Durante os 4 anos de estudo foram realizadas 11.305 dosagens de lípides e lipoproteínas em 2.031 crianças e adolescentes com idade média de 12 anos e um discreto predomínio do sexo feminino.

Com relação às características bioquímicas, a concentração média dos analitos para a população geral mostra valores de C e TG acima dos recomendados, sendo que o valor médio de HDL-C e LDL-C estão dentro dos valores estabelecidos.

Comparando-se os resultados encontrados neste estudo com os recomendados pelo NCEP (10) e IIIDBSD (11), para crianças e adolescentes observamos que 44,0% dos indivíduos apresentam hipercolesterolemia, 48,0% hipoalfalipoproteinemia, 36,0% hiperbetalipoproteinemia e 52,3% hipertrigliceridemia. Ou seja, os intervalos percentis revelam que uma alta porcentagem desta população apresenta dislipidemias.

A tabela 3 também demonstra uma alta frequência de dislipidemias mistas nestas crianças e adolescentes.

Este fato poderia ser explicado em parte por se tratar de indivíduos que procuraram serviços médicos, porém como as amostras são de pacientes ambulatoriais e de todos os setores especializados do hospital esta hipótese se atenua.

A figura 1 demonstra uma redução significativa dos valores séricos de C e LDL-C, comparando-se o ano de 2000 com 2003, fato que não ocorreu com o HDL-C e TG. Isto pode ter ocorrido pelos mesmos motivos que estão levando à redução de DAC, como já comentado acima.

Quando analisamos os sexos separadamente, observamos valores significativamente mais altos no sexo feminino para o HDL-C e no sexo masculino para o TG. Com relação às diferentes faixas etárias, com exceção do HDL-C que não variou com a idade, notamos uma tendência para a redução dos níveis séricos dos lípides e lipoproteínas comparando-se a faixa etária de 1 dia-12 anos com a de 13-19 anos.

Portanto, os resultados encontrados neste trabalho vão ao encontro aos da literatura, que apontam para uma alta frequência de dislipidemias em crianças e adolescentes, o que a torna um grave problema nesta amostra populacional hospitalar (1,3,9). Para compreender o que isto representa em termos de saúde pública são necessários outros estudos em amostras ambulatoriais e não hospitalares.

É difícil estabelecermos nas crianças e adolescentes uma relação entre DAC e os níveis séricos do colesterol porque as manifestações clínicas não costumam ocorrer cedo, entretanto estudos feitos a partir de autópsias demonstram placas de gordura nas artérias coronárias a partir dos 10 anos de idade (5,20).

Acredita-se que exista uma associação de fatores ambientais e genéticos, sendo este último de grande importância. Gulati e Saxena (5) estudando crianças indianas de 5 a 14 anos cujos parentes tinham antecedentes de DAC prematura e confrontando os achados com um grupo controle sem história familiar de DAC encontraram diferença significativa entre os dois grupos com níveis mais elevados de C, LDL-C e TG e reduzidos

de HDL-C no grupo com história pregressa comparado com o controle. Além disso, houve correlação positiva entre o nível lipídico do parente com DAC prematura e a sua criança.

Romaldini et al. (6) avaliando os fatores de risco para aterosclerose em crianças e adolescentes também com história familiar de DAC prematura identificaram 41% dos participantes com 1 a 4 fatores de risco. Neste estudo 27,5% apresentaram C >170mg/dL, 19,3% LDL-C <110mg/dL, 13,8% HDL-C <40mg/dL e 12,8% TG >130mg/dL. Moura et al. (8) estudando escolares de 7 a 14 anos também na cidade de Campinas, encontraram níveis percentuais elevados de hipercolesterolemia com 35,0% da população estudada apresentando C>170mg/dL.

Elias et al. (21) avaliaram 43 adolescentes filhos de hipertensos e encontrou as seguintes médias para o perfil lipídico: C= 177mg/dL, LDL-C= 119mg/dL, HDL-C= 39mg/dL e TG= 99mg/dL. Neste estudo maiores níveis de pressão arterial e perfil lipídico desfavorável ocorreram em filhos de hipertensos comparados aos de normotensos, comprovando mais uma vez a necessidade de se avaliar o perfil lipídico das crianças e adolescentes assintomáticos, quando se existe na família antecedente de algum fator de risco para DAC.

A obesidade, que também é um fator de risco cardiovascular secundário, em estudos americanos, mostrou elevação de 5% para 11% na sua prevalência se comparada a década de 1960 com a de 1990 (22).

Num estudo europeu, Reinehr et al. (23) observaram uma alta prevalência de fatores de risco cardiovasculares em crianças e adolescentes obesos, dos quais 11%, 9% e 29% apresentavam, respectivamente, C, LDL-C e TG elevados e 11% com redução no HDL-C.

Moura et al. (8) também associaram o índice de massa corpórea em escolares de 7 a 14 anos na cidade de Campinas à hipercolesterolemia e a prevalência de obesidade nesta população foi de 24,4%. Como uma das complicações da obesidade é a dislipidemia, a tendência é observar um aumento também no número de crianças dislipidêmicas e possivelmente uma antecipação na faixa etária de ocorrência de DAC.

Os intervalos interpercentis do perfil lipídico de crianças e adolescentes obtidos neste estudo indicam a alta prevalência de dislipidemias nesta região. Estudos em outras comunidades e em outras regiões do país devem ser realizados para a identificação das dislipidemias e de outros fatores de risco para a DAC, e atuação em seu tratamento e prevenção. Destaca-se neste estudo a característica retrospectiva e portanto financeiramente econômica do modelo utilizado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Mansur AP, Favarato D, Souza MFM, Avakian SD, Aldrigui JM, César LAM, et al. Trends in Death from Circulatory Diseases in Brazil Between 1979 and 1996. *Arq Bras Cardiol.* 2001;76:504-10.
- 2- Castanho VS, Oliveira LS, Pinheiro HP, Oliveira HCF, de Faria EC. Sex differences in risk factors for coronary heart disease: a study in a Brazilian population. *BMC Public Health.* 2001;1:3.
- 3- Santos RD, Sposito AC, Santos JE, Fonseca FH, Moriguchi EH, Martinez TLR, et al. PANDORA – Survey of Brazilian Cardiologists about Cholesterol Reduction. *Arq Bras Cardiol.* 2000;75:289-302.
- 4- Castelli WP. Lipids, risk factors and ischaemic heart disease. *Atherosclerosis.* 1996;124:S1-9.
- 5- Gulati S, Saxena A. Study of Lipid Profile in Children of Patients with Premature Coronary Artery Disease. *Indian Pediatrics.* 2003;40:556-60.
- 6- Romaldini CC, Issler H, Cardoso AL, Diament J, Forti N. Fatores de risco para aterosclerose em crianças e adolescentes com história familiar de doenças arterial coronariana prematura. *J Pediatr.* 2004;80:135-40.
- 7- Coronelli CLS, Moura EC. Hipercolesterolemia em escolares e seus fatores de risco. *Rev Saúde Pública.* 2003;37:24-31.
- 8- Moura EC, Castro CM, Mellin AS, Figueiredo DB. Perfil lipídico em escolares de Campinas, SP, Brasil. *Rev Saúde Pública.* 2000;34:499-505.
- 9- Seki M, Seki MO, Niyama FP, Pereira PG Jr, Seki MO, Matsuo T, et al. Determinação dos intervalos de referência para lipídeos e lipoproteínas em escolares de 10 a 19 anos de idade de Maracá (SP). *J Bras Patol Med Lab.* 2003;39:309-16.
- 10- National Cholesterol Education Program (NCEP). Third Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *Circulation.* 2002;24:3144-421.

- 11- III Diretrizes Sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arq Bras Cardiol. 2001;77:4-48.
- 12- Martinez TLR, Santos RD, Armaganijan D, Torres KP, Loures-Vale A, Magalhães ME, et al. National Alert Campaign about Increased Cholesterol. Determination of Cholesterol Levels in 81.262 Brazilians. Arq Bras Cardiol. 2003;80:635-8.
- 13- Rabelo LMR, Viana RM, Schimith MA, Patin RV, Valverde MA, Denadai RC, et al. Risk Factors for Atherosclerosis in Students of a Private University in São Paulo - Brazil. Arq Bras Cardiol. 1999;72:575-80.
- 14- Guimarães AC, Lima M, Mota E, Lima JC, Martinez T, Conti A, et al. The Cholesterol Level of a Selected Brazilian Salaried Population: Biological and Socioeconomic Influences. CVD Prevention 1998;1:306-17.
- 15- Nicolau JC, Bechara DL, Nascimento SD, Greco OT, Jacob JL, Lorga AM. The cholesterol profile in the city of São José do Rio Preto. Arq Bras Cardiol. 1992;59:433-40.
- 16- Kwiterovich PO. Plasma Lipid and Lipoprotein Levels in Childhood. Ann N Y Acad Sci. 1991;623:90-107.
- 17- Medicare, Medicaid and CLIA programs; revision of the laboratory regulations for the Medicare, Medicaid, and Clinical Laboratories Improvement Act of 1967 programs-HCFA. Final rule with comment period. Fed Regist. 1990; 55:9538-610.
- 18- Medicare program; Medicare and laboratory certification program; enforcement procedures for laboratories-HCFA. Final rule. Fed Regist 1992;57:7218-43.
- 19- Ministério da Saúde. Fundação Nacional da Saúde: DATASUS. C2004 - [citado 18 de maio de 2005]. Disponível em: <http://www.datasus.gov.br>.
- 20- Strong JP, McGill HC Jr. The pediatric aspect of atherosclerosis. J Atheroscler Res. 1969;9:251-65.

- 21- Elias MC, Bolívar MSM, Fonseca FAH, Martinez TLR, Angelini J, Ferreira C, et al. Comparação do Perfil Lipídico, Pressão Arterial e Aspectos Nutricionais em Adolescentes, Filhos de Hipertensos e de Normotensos. Arq Bras Cardiol. 2004;82:139-42.
- 22- Sorof J, Daniels S. Obesity Hypertension in Children: A Problem of Epidemic Proportions. Hypertension. 2002;40:441-7.
- 23- Reinehr T, Wabitsch M, Andler W, Beyer P, Bottner A, Chen-Stute A, et al. Medical care of obese children and adolescents. APV: a standardised multicentre documentation derived to study initial presentation and cardiovascular risk factors in patients transferred to specialised treatment institutions. Eur J Pediatr. 2004;163:308-12.

Tabela 1- Percentis selecionados do perfil lipídico na população total e por sexo e idade

	n	n	Percentis selecionados (mg/dL)						
	participantes*	testes*	5°	10°	25°	50°	75°	90°	95°
C									
AP †	2029	3059	108	120	140	165	194	237	287
M ‡	903	1401	105	116	133	161	191	232	291
F ‡	1126	1658	114	125	144	168	197	239	279
1 dia-12 §	948	1430	107	120	141	166	196	243	307
13-19	1081	1629	109	120	138	163	193	232	269
HDL-C									
AP†	1848	2699	28	32	38	46	56	67	74
M ‡	800	1205	27	31	37	44	55	66	76
F ‡	1048	1494	28	32	39	47	57	67	73
1dia-12 §	824	1217	25	31	38	47	57	68	75
13-19	1024	1482	29	33	38	46	56	66	73
LDL-C									
AP†	1796	2572	53	63	79	99	123	156	186
M ‡	782	1160	47	56	74	95	119	155	198
F ‡	1014	1412	53	65	81	101	125	156	179
1 dia-12 §	798	1146	53	63	79	101	124	161	202
13-19	998	1426	54	64	79	98	122	153	180
TG									
AP†	1987	2975	39	46	59	85	131	206	289
M ‡	885	1363	38	43	58	85	136	216	294
F ‡	1102	1612	42	47	61	86	128	199	283
1 dia-12	917	1366	38	44	58	86	135	229	315
13-19	1070	1609	41	47	61	85	130	193	257

*n= número de participantes ou testes; †AP= população total; ‡M=masculino, F=feminino; §faixa etária.

Tabela 2- Frequência de crianças e adolescentes com valores lipídicos séricos acima ou abaixo dos recomendados por kwiterovich's

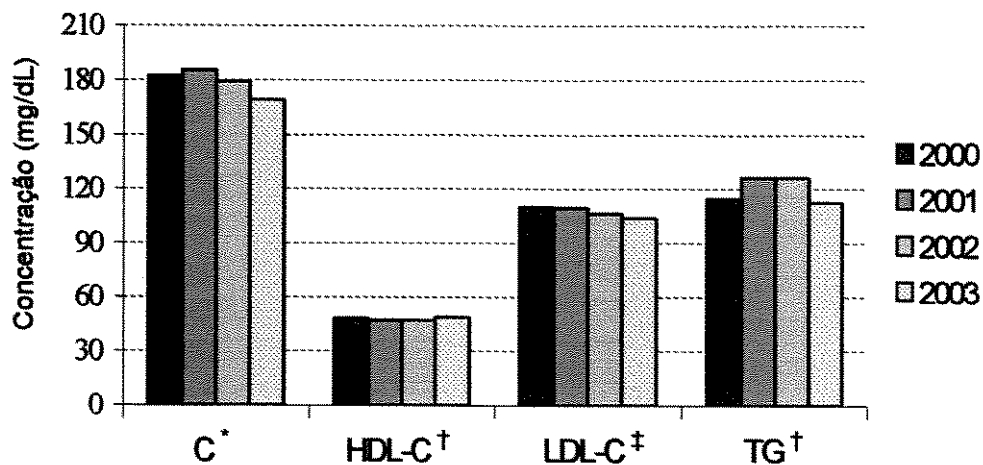
Parâmetros	Valores recomendados por Kwiterovich's (mg/dL)		Frequência de dislipidemias									
	1 dia – 19 anos		AP*		M †		F †		1 dia – 12 anos		13 – 19 anos	
	1dia– 12 a	13 – 19 a	n ‡	% §	n	%	n	%	n	%	n	%
C	< 170		894	44.0	362	39.6	532	47.6	455	45.8	439	42.3
HDL-C	> 45		975	48.0	489	53.5	486	43.5	459	46.2	516	49.7
LDL-C	< 110		731	36.0	301	32.9	430	38.5	366	36.9	365	35.2
TG	< 75	< 90	1062	52.3	465	50.9	597	53.4	588	59.2	474	45.7

*AP= população total; †M= masculino, F= feminino; ‡n= número de indivíduos dislipidêmicos em cada subgrupo; § porcentagem baseada em 2,031 indivíduos para a população total, 914 para sexo masculino, 1.117 para sexo feminino, 993 para 1 dia - 12 anos e 1.038 para 13 - 19 anos.

Tabela 3- Frequência de crianças e adolescentes com dislipidemia mista

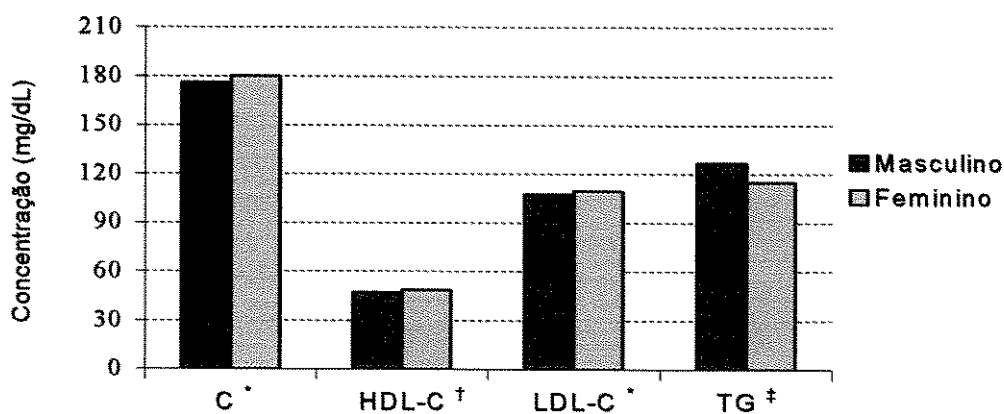
Dislipidemias mistas *	AT		M †		F †		1 dia –12 a		13 – 19 a	
	n ‡	% §	n	%	n	%	n	%	n	%
C e TG	685	33.7	296	32.4	389	34.8	349	35.1	336	32.4
C e HDL	380	18.7	169	18.5	211	18.9	183	18.4	197	20.0
TG e HDL	643	31.6	311	34.0	332	29.7	338	34.0	305	29.4

* combinação de valores aumentados para C ou TG com redução de HDL-C ou valores aumentados para C e TG; †M= masculino, F= feminino; ‡n= número de indivíduos com dislipidemias mista; §porcentagem baseada no número de indivíduos em cada subgrupo, AT: amostra total.



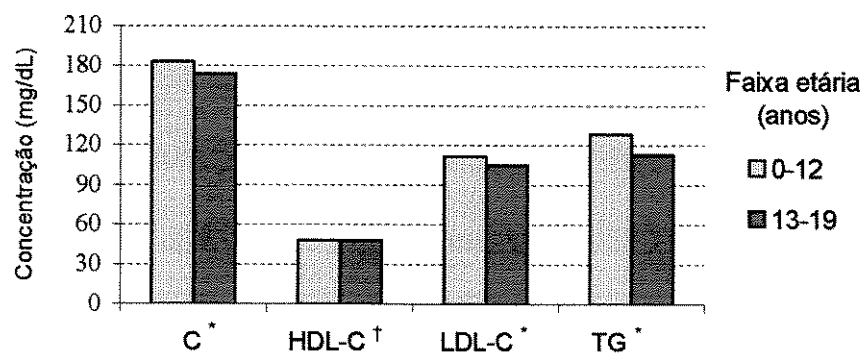
P<0.05, teste ANOVA para diferença entre os anos: *redução significativa ao longo dos anos, comparando-se 2003 com os demais anos; †não houve redução significativa ao longo dos anos; ‡redução significativa ao longo dos anos, comparando-se 2003 com 2000 e 2001.

Figura 1- Perfil lipídico da população total ao longo do estudo



P<0.05, teste "t" para diferença entre os sexos: * não houve diferença significativa entre os sexos; †valores mais elevados no sexo feminino; ‡valores mais elevados no sexo masculino.

Figura 2- Perfil lipídico da população total de acordo com o sexo



$P < 0.05$, teste "t" para diferença entre as faixas etárias: *valores mais baixos na faixa etária de 13 a 19 anos; † não houve diferença significativa entre as idades.

Figura 3- Perfil lipídico da população total de acordo com a faixa etária

4.2- Capítulo 2 (Relato do Caso Clínico 1)

RECURRENT EPISODES OF EPIDIDYMITIS IN A YOUNG BOY WITH TYPE I HYPERLIPOPROTEINEMIA SECONDARY TO A COMBINED MUTATION ON THE LIPOPROTEIN LIPASE GENE

(será submetido ao *Pediatrics*)

4.2- Capítulo 2 (Relato do Caso Clínico 1)

**RECURRENT EPISODES OF EPIDIDYMITIS IN A YOUNG BOY WITH TYPE I
HYPERLIPOPROTEINEMIA SECONDARY TO A COMBINED MUTATION
ON THE LIPOPROTEIN LIPASE GENE (será submetido ao *Pediatrics*)**

Takata T.R.^{1,2,3}; Schreiber R.¹; Guerra Jr.G.³; Castilho, L.N.¹; de Faria E.C.^{1,2}

**Departamento de Patologia Clínica (FCM)¹; Ambulatório de Dislipidemias²; Unidade
de Endocrinologia Pediátrica - Departamento de Pediatria/CIPED³; UNICAMP,
Campinas (SP)**

Correspondence: Eliana C de Faria

Mailing address: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Departamento de Patologia Clínica, FCM - Unicamp - Barão Geraldo

CEP: 13084-971 – Campinas, SP, Brazil

Telephone: 0055 19 37887064; FAX: 0055 19 37889434

e-mail: cotta@fcm.Unicamp.br

ABSTRACT

Lipoprotein lipase (LPL) is a key protein in the catabolism of triglyceride-rich lipoproteins. Type I hyperlipoproteinemia, a rare recessive autosomal disease (1, 2, 3), is characterized by lack or absence of LPL enzymatic activity. It may be caused by mutations on the LPL gene or apoC II, its cofactor. Children with this deficiency may develop acute pancreatitis, eruptive xantomata and lipemia retinalis, the first presentation frequently being non-diagnosed. A combined LPL gene mutation in a young boy with type I hyperlipoproteinemia and with a peculiar clinical course is described. Severe hypertriglyceridemia can cause serious illness and close monitoring for disease progression is warranted.

Case report

At the age of 5 months (07/25/1996) a boy was admitted at the Pediatric Emergency Department of the University at Campinas Hospital, São Paulo, Brazil, with a history of vomits with a milky aspect and abdominal distention.

The physical examination showed that he was hydrated, afebrile, with a cardiac frequency of 92 beats per minute, respiratory frequency of 32 rhythms per minute, extended abdomen with normal hydroaereous noises, liver to 3 cm from the right costal margin and spleen to 3 cm from the left costal margin; the remaining segmental exam was normal.

An intestinal invagination was made the as diagnostic hypothesis but it was eliminated by opaque enema with intestinal transit, considered normal.

Laboratory tests for failures of metabolism and urine I and urine culture were performed, all non any inherent altered.

Also an ultrasonography of total abdomen was performed, in which an enlargement of spleen and liver was observed.

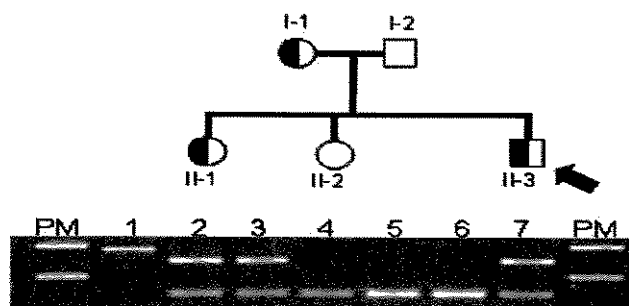
Then, the patient was hospitalized for diagnostic investigation and a very lipemic serum was observed during the blood collect. The patient's lipidic profile was required, revealing: hypertriglyceridemia, triglycerides (07/28/1996) equal to 1279 mg/dL (reference value < 100mg/dL), total cholesterol of 284 mg/dL (reference value ≤170mg/dL), HDL-C of 24mg/dL (reference value ≥ 40mg/dL) and LDL (not calculated). The patient presented with glycemia equal to 75mg/dL, calcium, 10.20mg/dL (reference value: 9 a 11), sodium 138mEq/L (reference value:132-145), potassium of 4.70mEq/L (reference value:3,1-5,1), apolipoprotein B, 35mg/dL (reference value, 55-140mg/dL), apolipoprotein A, 1.25mg/dL (reference value, 110-205mg/dL), Lp (a) 2.59mg/dL (reference value<30mg/dL) and the hepatic profile was (AST 38 U/L→reference value, 47U/L), ALT 15 U/L reference value, 38U/L), alkaline phosphatase 1061 U/L (reference value, 269U/L) and GGT of 12 U/L (range, 09-40U/L). The patient's parents and sisters presented lipidic profile in the reference ranges. A fat restricted diet was initiated, considering the hypothesis of the type I hyperlipoproteinemia Friedrickson, which was confirmed by the measurement of the enzymatic activity of post-heparin LPL (undetectable).

Table 1- Anthropometric, clinical and laboratory**Characteristics of the patient and family**

Parameters	Patient							Father	Mother	Sister	Sister
age (years)	5 meses	1y	2y	5y	6y	7y	7y	45	44	15	13
sex (F/M)	M						M	M	F	F	
BMI (kg/m ²)	17				15	16	16	23	25	18	15
Carotid IMT (mm)	-						0,58	0,50	0,70	1,00	0,50
Scrotal pain	-		+			+	+	-	-	-	-
Acute pancreatitis	-		-			+	+	-	-	-	-
TG (mg/dL)	1279		1435			2315	2900	175	116	94	85
C (mg/dL)	284		144			232	303	248	209	171	146
LDL-C (mg/dL)	-							183	142	107	88
HDL-C (mg/dL)	24					25	13	30	44	45	41
VLDL-C (mg/dL)	-							35	23	19	23
Apo A-I (mg/dL)	25							92	118	126	114
Apo B (mg/dL)	2,6							157	114	89	88
Lp(a) (mg/dL)								26	13	45	3
LPL (nmol FFA/mL/h)	-	0						-	-	-	-
HL (nmol FFA/mL/h)	-	100						-	-	-	-
IL-6 (pg/mL)							<2				
Oxidized LDL (mU/L)	-						30	-	-	-	-
Glucose (mg/dL)	75				70	75	80				
Insulin (μIU/mL)	-						4	4	3	6	66
Amilase (U/L)	-						49	44			
Lipase (U/L)	-						145	16			

BMI= body mass index; IMT= intima-media thickness; Tg= triacilglycerol; C= cholesterol total; LDL-C = low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C = high-density lipoprotein cholesterol; VLDL-C= very-low density lipoprotein cholesterol; Lp(a)= lipoprotein (a); apoAI= apolipoprotein AI; apoB= apolipoprotein B100; HL= hepatic lipase; LPL= lipoprotein lipase Value referential (0-19 years C≤170mg/dL, <10years: HDL-C>45mg/dL and 10-19 years: HDL-C≥35mg/dL, <10 years: TG≤100mg/dL and 10-19 years: TG≤130mg/dL, adults C≤200mg/dL, LDL-C<100mg/dL and HDL-C>40mg/dL, glucose = 70-109mg/dL, insulin<25μIU/mL, apo A1: men= 110-205mg/dL e woman= 125-215mg/dL, apo B: men= 55-140mg/dL e woman= 55-125mg/Dl, Lp(a) <30mg/dL, amilase: 100 U/L, lipase (<190U/L), oxidized LDL: <30mU/L, IMT carotid: 10-12 years (male): 0,49 ±0,04, 13-14 years (female): 0,49 ±0,03, 15-16 years (female): 0,49 ±0,03, 41-45 years: (female): 0,52±0,04 and (male): 0,56±0,05 and IL-6<2,1 pg/mL

By the age of 7 it was made a molecular study of the mutation in the 188, 174 and 9 codons of the lipoprotein lipase gene of the child and his family. Both the child and the family did not show the mutation in the 174 and 9 codons. The result of the research of the mutation in the 188 codon is below listed on the heredogram.



The arrows indicate the probands. PM= molecular weight marker. Family - Well 1- positive mutation control; Well 2 (individual II-1), Well 3 (proband I-1), Well 4 (individual II-2) and Well 5 (individual I-2), Well 6- Control normal in relation to mutation and Well 7 (individual II-3).

Figure 1- Heredogram and detection of mutation LPL Gly188Glu

Clinical course

Since the patient presented little adherence to the diet, he evolved with 2 episodes of suggestive acute pancreatitis, (10/20/2003 and 12/15/2003) at 7 years of age, with remission with the clinical treatment.

During the periods of hyperchylomicronemia, he presented six episodes of scrotal pain as well. The patient presented the first episode of epididymitis when he was 4 years old. During this period, the physical exam showed enlargement of the scrotum to the left, with local and afebrile hyperemia. The family and him denied history of trauma. In this occasion, urine and urine culture, amylase and lipase were performed not altered. In this period the lipid profile, which confirmed the hyperchylomicronemia, with triglycerides equal to 1435 mg/dL and total cholesterol 144 mg/dL.

During the scrotal pain, an ultrasonography of scrotum was performed as well, confirming epididymitis on the right side (FIGURE 2 below). The report examination was: topic left testicle of normal forms and volume, measuring 1.6 cm of length x 0.9 cm of density x 0.9 cm de width, with regular contours and homogeneous sonographic texture; topic right testicle of normal form and volume, measuring 1.5 cm of length x 1 cm of density x de 0.8 cm of width, also presenting regular contours and homogeneous sonographic texture.

There was no evidence of herniation or hydrocele signs. According to the image examiner, the right epididymis presented with discreet increase of volume and a vascular increase was observed during mapping with colored Doppler. The left epididymo presented sonographically not altered miction uretrocystography was performed as well, in order to eliminate urinary malformations that could be related to recurrent episodes epididymitis during childhood.



Figure 2- Ultrasonic image of epididymitis (It is identified by the epididymitis arrow to the right)

The patient, who was little adherent to the diet, presented a new episode of scrotal pain, mainly to the left, at the age of 7 years. The urine I, urine culture, hemogram, amylase and lipase examinations were performed again, presenting normal results. Also, a lipidic profile was requested, confirming the hypertriglyceridemia (triglycerides of 2.900mg/dL).

A new epididymitis was visualized to the left by means of the scrotum ultrasonography with Doppler (TR= 1.4 cm X 0.6 cm X 1.2 cm and TL= 1.5 X 0.8 X 1.2 cm). The blood flow was preserved to the Doppler study.

The treatment for all of episodes of scrotal pain was basically clinical and conservative. The children's parents were advised about the need of treatment with fat restrictive fat diet and also oriented concerning rigorous follow-up with nutritionist.

The child in the ponderal index graph is on the percentile 50. A carotid ultrasonography was performed showing an intima-media thickness a 15% increase when compared to reference values.

The patient little adherent to the diet that consisted on the daily ingestion of 1-2% of lipids, 70-75% of carbohydrates and 20-25% of proteins progressing with severe hypertriglyceridemia in contraposition to the family that showed normal seric triglycerides.

DISCUSSION

Type I hyperlipoproteinemia is a rare recessive autosomal disease (1, 2, 3) characterized by lacking or absence of enzymatic activity of the lipoprotein lipase, which is responsible by the hydrolysis of triglycerides in chylomicrons. It may involve mutations of the LPL gene or apoC-II, which is a cofactor of the lipase lipoprotein.

The LPL is produced in the adipose and muscular tissues and transported to the vascular lacuna, where generates hydrolysis of triglycerides. The LPL enzymatic deficiency causes the accumulation of chylomicrons in the plasma, which may be detected even in fast period.

In laboratory, patients with enzymatic deficit of the LPL may course with an accentuated plasmatic hypertriglyceridemia, with triglycerides varying between 2.000 and 10.000 mg/dL. The phenotypic diagnosis is performed by measurement in plasmatic activity in post-heparin plasma, which removes lipase lipoprotein that is aggregated to molecules of proteoglycans in the capillary endothelium (3). Through the molecular diagnosis the following main mutations are found: Asn291Ser, Gly188Glu, Pro207Leu (4, 5, 6, 7, 8).

On patients carrying the LPL mutations it was demonstrated an increasing of the relative risk to the development of premature cardiovascular disease. Therefore the detection of these mutations is beneficial not only for the diagnosis and control of the hypertriglyceridemia but also for the prevention of the development of the atherosclerotic disease.

This is the first case report of mutation in the 188 codon in Brazil.

Clinically, patients with type I hyperlipoproteinemia may present recurrent episodes of abdominal pain, acute pancreatitis, hepatosplenomegaly, lipemia retinalis, eruptive xanthomas and, eventually, may present asymptomatic. The main clinic manifestation of the familial lipase lipoprotein deficiency is the abdominal pain. The pain etiology is uncertain. On the other hand, the abdominal pain could be explained by the fact that during periods of hypertriglyceridemia, there would be a great production of toxic substances for the pancreatic cell, such as the lysolecithin, fatty acids and pancreatic

acids that could lead the patient to intensive abdominal pain and recurrent episodes of epididymitis. Another mechanism would be that the increase of plasmatic triglycerides would lead to the increase of the blood viscosity, diminishing the blood flow to the organs, such as the pancreas and epididymo, and developing areas of hypoxia, which could cause pain. The same mechanisms cited above may perhaps explain the episodes of scrotal pain. Acute epididymitis rarely affects prepuberal children (9, 10). The main causes of acute scrotal pain in children are ureteral obstruction, ectopic ureter and idiopathic etiology (9,10).

In literature there is only one relate by L.A .Simons, in 1980 (9), of a patient with familial LPL deficiency that evolved with epididymitis in the periods in which presented severe hypertriglyceridemia. The treatment for familial LPL deficiency basically consists in the restriction of fat ingestion, less of 20g/d, and the triglycerides that may be utilized are those of medium chain that are directly absorbed via portal vein without developing chylomicrons (2, 3, 12). In this form of hyperlipidemia, the triglycerides should be maintained under 1.000 mg/dL in order to avoid complications such as the acute pancreatitis.

The rigorous dietetic fat restriction control has a great importance in the familial lipoprotein lipase deficiency, considering that it could avoid hypertriglyceridemia complications, such as the pancreatitis, atherosclerosis and, in addition to the recurrent epididymitis, according to what was presented in this study.

Therefore, after excluding all the causes that can lead a child to recurrent episodes of epididymitis, such as urinary infection, malformations of the urinary tract and trauma, in patients with familial LPL deficiency, the hyperquilonemia should be considered as the etiology of the recurrent scrotal pain. It is expected that more frequently these cases are diagnosed and this association between the recurrent epididymitis and the type I hyperlipoproteinemia is more adequately

**BIBLIOTECA CENTRAL
DESENVOLVIMENTO
COLEÇÃO
UNICAMP**

REFERENCES

- 1- Brites F, Henriksen F, Fernandez K, Brusgaard K, Castro G, Wikinski R. New mutations in the lipoprotein lipase gene in a young boy with chylomicronaemia syndrome and in his family. *Acta Paediatr* 2003; 92:621-4.
- 2- Cisternas JR, Monte O. Hiperlipidemias. In: Monte O, Longui CA, Calliari LEP (eds). *Endocrinologia para o pediatra*. 2.ed., São Paulo: Atheneu; 1998. p.271-285.
- 3- Greenspan FS, Strewler GJ. Dislipidemias. In. *Endocrinologia básica e clínica*. 5^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.p. 501- 521
- 4- Etienne J, Brault D. Lipoprotein lipase deficiencies. *Ann Biol Clin (Paris)* 1992; 50: 299-309.
- 5- Merkel M, Eckel RH, Goldberg IJ. Lipoprotein lipase: genetics, lipid uptake, and regulation. *J Lipid Res* 2002; 43:1997-2006.
- 6- Reina M, Brunzell JD, Deeb SS. Molecular basis of familiar chylomicronemia: mutations in the lipoprotein lipase and apolipoprotein C- II genes. *J Lipid Res* 1992; 33:1823-32.
- 7- Humphries SE, Mailly F, Gudnason V, Talmud P. The molecular genetics of pediatric lipid disorders: recent progress and future research directions. *Pediatr Res* 1993; 34:403-415.
- 8- Gilbert B, Rouis M, Griglio S, de Lumley L, Laplaud P. Lipoprotein lipase deficiency: a new patient homozygote for the preponderant mutation Gly188Glu in the human LPL gene and review of reported mutations: 75% are clustered in exons 5 and 6. *Ann Genet* 2001; 44:25-32.
- 9- Simons LA, Grigor W, Martin HC, Gibson JC, Gunn AP. Type I hyperlipoproteinaemia and recurrent scrotal pain. *Aust N Z J Med* 1980; 10:336-9.
- 10- Kass EJ, Lundak B. The acute scrotum. *Pediatr Clin North Am* 1997; 44:1251-1266.

- 11- Sheldon CA. The pediatric genitourinary examination. Inguinal, urethral, and genital diseases. *Pediatr Clin North Am* 2001; 48:1339-80.
- 12- Evans V, Kastelein IJ. Lipoprotein lipase deficiency - rare or common? *Cardiovasc Drugs Ther* 2002; 16:283-7.
- 13- Feoli-Fonseca JC, Levy E, Godard M, Lambert M. Familial lipoprotein lipase deficiency in infancy: clinical, biochemical, and molecular study. *J Pediatr* 1998; 133: 417-423.
- 14- Jap TS, Jenq SF, Wu YC, Chiu CY, Cheng HM. Mutations in the lipoprotein lipase gene as a cause of hypertriglyceridemia and pancreatitis in Taiwan. *Pancreas* 2003; 27:122-6.
- 15- Deckelbaum RJ, Dupont C, Le Tarte J, Pencharz P. Primary hypertriglyceridemia in childhood. *Am J Dis Child* 1983; 137:396-8.
- 16- Mishkel MA. Primary hypertriglyceridemia. *Am J Dis Child* 1984; 138:607.

4.3- Capítulo 3 Relato de Casos 3 (relato dos casos 2 e 3)

ESTUDO DE CASOS COM ETIOPATOGENIA DIVERSA:

Hipertrigliceridemia severa em crianças

(será submetido aos Arquivos Brasileiros de Endocrinologia)

4.3- Capítulo 3 Relato de Casos 3 (relato dos casos 2 e 3)

ESTUDO DE CASOS COM ETIOPATOGENIA DIVERSA: Hipertrigliceridemia severa em crianças (será submetido aos Arquivos Brasileiros de Endocrinologia)

Takata T.R.^{1,2}; Schreiber R.¹; Prado E.³; Mori M.³; Monte O.⁴ de Faria E.C.^{1,2}

Departamento de Patologia Clínica (FCM)¹; Ambulatório de Dislipidemias e Departamento de Patologia Clínica²; Ambulatório de Hepatopediatria, Santa Casa de Misericórdia de São-Paulo³; Ambulatório de Endocrinopediatria, Santa Casa de Misericórdia de São- Paulo⁴

Correspondence: Eliana C de Faria

Mailing address: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Departamento de Patologia Clínica, FCM - Unicamp - Barão Geraldo

CEP: 13084-971 - Campinas, SP, Brazil

Telephone: 0055 19 37887064 - FAX: 0055 19 37889434

e-mail: cotta@fcm.Unicamp.br

RESUMO

Objetivos: Descrever dois casos clínicos com hipertrigliceridemia grave na infância e na adolescência e realizar o seu diagnóstico diferencial.

Métodos: A mutação Gly188Glu foi amplificada pela técnica de PCR. Os lípides, lipoproteínas e apolipoproteínas séricos foram quantificados por métodos enzimático-colorimétricos, homogêneos e nefelométricos e a insulinemia por ensaio imunométrico. A LDL oxidada foi medida por ELISA. As atividades da LPL e da lipase hepática (LH) foram mensuradas por métodos radiométricos. A espessura intima-média de carótidas foi mensurada por ultrassonografia (Bothell, USA).

Resultados: **Caso 1:** Menino de 03 anos com 01 mês de vida iniciou com febre. Na investigação laboratorial foi observado soro lipêmico e o perfil lipídico confirmou a hipertrigliceridemia severa. Aos 03 anos detectou-se a mutação Gly188Glu em homozigose na criança e em heterozigose nos pais.

Caso 2: Menino de 15 anos aos 09 meses de idade apresentou no exame de rotina hepatoesplenomegalia. Solicitado o perfil lipídico que confirmou a hipertigliceridemia severa. A fenotipagem de lipoproteínas confirmou a hiperlipidemia tipo IV.

Discussão: Esta é a primeira vez que a mutação é descrita no Brasil. É importante realizar o diferencial etiopatogênico das hipertrigliceridemias graves tanto para o prognóstico e para o tratamento.

Unitermos: Hipertrigliceridemia severa; crianças, etiopatogenia

ABSTRACT

Objective: To describe two clinical cases of severe primary hypertriglyceridemia during childhood and adolescence.

Methodos: Lipoprotein Lipase Gly188Glu gene mutation detection was made by PCR. Lipids, lipoprotein, apoproteins were determined by enzymatic, homogeneous and turbidimetria methods; oxidized LDL by Elisa. Lipoprotein Lipase and hepatic lipase activities by radiometric assays and intima-media hickness byultrasonografia

Description: Case 1: A three-year old boy began with coughs and fever when he was one month old. The laboratory investigation revealed lipemic serum and the lipid profile confirmed severe hypertriglyceridemia, with triglycerides equal to 1249 mg/dL. The lipoprotein lipase (LPL) gene mutation Gly188Glu was detected in homozygosis in the child at age 3 and in heterozygosis in the parents.

This is the first description of Gly188Glu LPL mutation in Brazil.

Case 2: A healthy 15 year-old male presented pediatric hepatosplenomegaly when he was five years old during a routine examination. An assessment of the lipid profile confirmed severe hypertriglyceridemia. Lipoprotein phenotyping indicated type IV hyperlipidemia according to the Fredrickson's classification.

Discussion: Differential etiopathogeny of severe primary hypertriglyceridemia is extremely important for atherosclerosis prevention, prognosis and treatment.

Key words: Severe hypertriglyceridemia, children, etiopathogeny

INTRODUÇÃO

A hipertrigliceridemia se deve ao aumento plasmático de triglicerídeos. Segundo o NCEP os valores dos triglicerídeos séricos em adultos são classificados em desejáveis <150mg/dL, levemente altos 150-199mg/dL, altos >200-499mg/dL e muito altos >500mg/dL (1). Na infância consideram-se hipertrigliceridemia valores de triglicerídeos séricos 5% acima do percentil 95 conforme o sexo e a idade (2). As hipertrigliceridemias podem ser de causa primária ou secundária. Na infância, predominam as hipertrigliceridemias secundárias às glicogenoses, atresia das vias biliares, diabetes mellitus e síndrome nefrótica. O aumento sérico de triglicerídeos por fatores primários ou genéticos raramente acometem crianças (3,4). As principais causas de hipertrigliceridemias primárias são por deficiência de lipoproteína lipase (LPL), disbetalipoproteinemia e hipertrigliceridemia familiar. A incidência na população da deficiência da LPL é de 1 para cada 1.000.000 de indivíduos. É uma doença autossômica recessiva e é caracterizada por hipertrigliceridemia grave. Seu diagnóstico pode ser realizado na coleta de exames laboratoriais de sangue e ou soro extremamente lipêmico. A principal manifestação clínica é a queixa de dor abdominal que pode se manifestar desde o nascimento. O tratamento consiste na restrição dietética de gordura e carboidratos (3,4 e 5).

A disbetalipoproteinemia se deve a uma mutação no gene responsável pela codificação da apo E. A sua incidência é de 1:10.000. Aproximadamente 80% dos pacientes apresentam xantomas tuberosos (4).

A hipertrigliceridemia familiar é uma doença autossômica dominante e decorre do defeito do catabolismo da VLDL. Não se sabe a sua incidência na população geral. É uma dislipidemia que pode se associar com outras patologias como obesidade, alcoolismo, diabetes mellitus e uso de medicamentos como diuréticos tiazídicos, betabloqueadores e estrógenos. O diagnóstico é realizado na adolescência. O diagnóstico diferencial é com a hiperlipidemia combinada familiar ou com as hipertrigliceridemias de causas secundárias (3,4 e 5).

Os objetivos deste trabalho foram descrever dois casos clínicos com hipertrigliceridemia severa na infância e na adolescência e realizar o seu diagnóstico diferencial baseando-se na história clínica, nos exames laboratoriais e nos resultados de análises moleculares.

MÉTODOS

Os pacientes selecionados apresentavam hipertrigliceridemia grave, maior que 500mg/dL (triglicerídeos séricos 5% acima do percentil 95 conforme o sexo e a idade). Os pacientes são provenientes, um do Ambulatório de Dislipidemias do Hospital de Clínicas da Unicamp e o outro do Ambulatório de Hepatopediatria e Endocrinopediatria da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

Os critérios utilizados para exclusão de pacientes para o estudo foram aqueles com hipertrigliceridemia por causas secundárias como: nefropatas, hepatopatas, diabéticos, hipotireóides e os que utilizavam medicamentos como estrógenos e corticóides.

Foi realizado um questionário no qual constavam os dados do paciente como nome, número de registro hospitalar, idade, raça, sexo, cor, nomes dos pais, representante legal da criança e adolescente, endereço e telefone. Foi realizada também uma investigação sobre os períodos pré e pós-natal do paciente verificado o seu hábito alimentar e realizada uma investigação minuciosa sobre a história familiar de doença cardiovascular prematura. Realizou-se também o exame físico segmentar.

Os lípides, lipoproteínas e apolipoproteínas séricos foram quantificados por métodos enzimático-colorimétricos, homogêneos e nefelométricos e a insulinemia por ensaio imunométrico. A LDL oxidada foi medida por ELISA (Mercodia). As atividades da LPL e da lipase hepática (LH) foram determinadas em plasma pós-heparina, por métodos radiométricos usando uma emulsão de ^3H trioleína como substrato.

Para a detecção da mutação Gly188Glu utilizou-se amplificação do exon 5 pela técnica de PCR e digestão enzimática com a endonuclease Ava-II.

Foi realizada a medida da espessura da íntima-média da carótida com Dr. Ruy Nakamura na Clínica Alfa Diagnóstico.

A espessura íntima-média de carótidas (EIM) foi mensurada por ultrassonografia (Bothell, USA) com um *probe* de 7-12 MHz. Os resultados individuais foram expressos como uma média das carótidas direita e esquerda e expressos em milímetros.

Estudo de Caso 1

G, R, K., 3 anos, sexo masculino, filho de pais consangüíneos, nascido de parto normal e sem intercorrências durante a gestação, natural e procedente de Peruce-SP deu entrada no Pronto-Socorro Infantil da Santa Casa de São Paulo, aos 25 dias de vida, com história de 01 semana de febre. Foi diagnosticado broncopneumonia. A criança alimentava-se exclusivamente de leite materno. No exame físico segmentar apresentava-se com fígado a 3 cm do RCD e baço a 2 cm do RCE. Foi realizada ultrassonografia de abdômen e quando se observou hepatomegalia. Na investigação foram solicitados exames laboratoriais e observado soro lipêmico. Os perfis lipídicos do paciente e dos pais são mostrados na Tabela 1.

Foi iniciada, então, após diagnóstico da hipertrigliceridemia grave, dieta com leite desnatado. O paciente pouco aderente à dieta vem evoluindo com hipertrigliceridemia grave.

Quanto aos antecedentes familiares os pais são saudáveis e apresentam perfis lipídicos não alterados.

O estudo molecular da mutação do gene da lipoproteína lipase foi realizado para os códons 188 (Figura 1), 174 e 9 na criança e seus pais. O diagnóstico etiopatogênico de hipertrigliceridemia foi feito, pela primeira vez no Brasil.

No heredograma (Figura 1) observa-se que o probando é homozigoto e os pais heterozigotos para a mutação no códon 188. Não foram identificadas as mutações no códon 174 e 9 na criança e seus familiares.

A criança vem evoluindo com desenvolvimento neurológico normal, peso e estatura no percentil 25.

Estudo de Caso 2

E.P.M., 15 anos, sexo masculino, filho de pais não consangüíneos, nascido de parto cesáreo e a termo.

Aos 9 meses foi observado na consulta pediátrica de rotina hepatoesplenomegalia. Os pais eram saudáveis. No exame físico a criança apresenta-se com desenvolvimento neuropsicomotor normal, fígado a 4 cm do RCD e baço a 4cm do RCE e o resto do exame segmentar estava sem alterações.

Sendo assim, foi iniciada a investigação da causa da hepatoesplenomegalia. A ultrassonografia de abdômen total estava normal. Solicitados exames laboratoriais (hemograma, função hepática, bilirrubinas totais e frações e sorologia para toxoplasmose, rubéola, mononucleose, citomegalovírus e HIV). Foi observado soro lipêmico. Determinou-se o perfil lipídico (colesterol: 337mg/dL e triglicerídeos: 2737mg/dL) e realizou-se biópsia hepática que não apresentou alterações. Iniciou-se dieta isenta de gordura. Colhidos também outros exames laboratoriais

O paciente perdeu seguimento no ambulatorio de Pediatria do Hospital de Clinicas da Unicamp dos 9 meses aos 3 anos de idade. Dos 4 anos até os 15 anos, o paciente apresentou período de melhora e piora do perfil lipídico. Pela tabela 2 observa-se que aos 04 anos a criança apresentou triglicerídeos séricos de 2880 mg/dL e somente com a dieta que consistia de 1-2% de lipídes, 75% de carboidratos e 25% de proteínas o paciente apresentou melhora acentuada do perfil lipídico. Aos 6 anos, pouco aderente à dieta, foi iniciada medicação (fibratos). O tratamento combinado dieta/medicamento melhorou o perfil lipídico da criança e dessa forma foi suspensa a medicação aos 6 anos. Utilizando somente a dieta (composição já descrita acima) o paciente conseguia melhora significativa nos valores dos perfis lipídicos (como se observa aos 7 anos na tabela 1). A medida da espessura da íntima-média da carótida mostrou-se sem alterações. Não há relatos pelo paciente de episódios de pancreatite. O paciente realizou exame oftalmológico e seu fundo de olho foi sem alterações.

Aos 7 anos foi solicitada a fenotipagem das lipoproteínas e o resultado foi tipo IV o que confirmou a hipertrigliceridemia familiar. Foi realizada nesta época a eletroforese de lipoproteínas de plasma material pré e pós-heparina, mostrando o efeito da LPL sobre o TG.

1) Pré-heparina:

Quilomicrons: ausentes

Pré-beta: aumentada

Beta: ausente

Alfa: subfrações 2 e 3

2) Pós-heparina

Fração alfa: fusão das subfrações 2,3 e 5

Quilomicrons: ausente

Pré-beta: diminuída

Beta: mais anódica

Fração alfa: fusão das subfrações 2,3 e 5

Aos 60 anos, o pai da criança evoluiu com acidente vascular cerebral e insuficiência renal crônica e faleceu.

Aos 15 anos transgredindo a dieta o paciente evoluiu com piora dos valores do perfil lipídico e foi iniciado tratamento com etofibrato e intensificados os cuidados com a dieta, porém o paciente perdeu seguimento no ambulatório de Dislipidemias da Unicamp. Nesta época apresentou resultados de LDL-oxidada sugerindo aumentados. A medida da espessura da íntima-média da carótida mostrou-se sem alterações. Não há relatos pelo paciente de episódios de pancreatite. O paciente realizou exame oftamológico e seu fundo de olho foi sem alterações.

O paciente aos 15 anos apresentava estadio puberal segundo a classificação de Tanner de G3-4P3-4 e peso e estatura no percentil 50.

Foi realizado o estudo molecular nos códons 188, 9 e 174, mas os resultados foram negativos.

DISCUSSÃO

É importante acompanhar pacientes com hipertrigliceridemia severa tanto do ponto de vista clínico, laboratorial e radiológico como pelo risco de evoluírem com pancreatite aguda e segundo alguns trabalhos com doença aterosclerótica (5,6 e 7).

A hipertrigliceridemia mais recentemente foi considerada fator de risco independente para a aterosclerose (7 e 8).

Os mecanismos que poderiam explicar a relação entre aterogenicidade e hipertrigliceridemia são: por aumento de quilomicrons remanescentes, aumento de LDL pequenas e densas, diminuição de HDL-C, aumento de VLDL remanescentes, deposição no espaço subendotelial de lipoproteínas remanescentes e alterações nos fatores de coagulação (aumento de PAI 1 e diminuição da fibrinólise) (8 e 9).

Dentre as hipertrigliceridemias primárias, aquelas com deficiência da lipoproteína lipase e com a mutação no códon 188 apresentam risco coronariano 5 vezes mais do que quando apresentam outras mutações associadas ao gene da LPL (9,10 e 11).

Os pacientes em homozigose para a mutação no códon 188 do gene da lipoproteína lipase apresentam-se já no momento do diagnóstico com hipertrigliceridemia severa e sua incidência na população geral é rara, cerca de 1:1.000.000 indivíduos (5 e 12).

Os pacientes com hipertrigliceridemia familiar apresentam produção hepática aumentada de triglicérides de VLDL e podem apresentar redução relativa da atividade de LPL. Não se sabe se pacientes com esta dislipidemia (hipertrigliceridemia familiar) apresentam maior risco coronariano. Parece que aqueles que apresentam diminuição de HDL-C apresentam maior risco de evoluírem com doença arterial coronariana em comparação àqueles com HDL-normal (4,12).

Pacientes que apresentam hipertrigliceridemia familiar apresentam os níveis de triglicerídeos em torno de 500-600mg/dL. Fatores como obesidade, ingestão alcoólica, diabetes mellitus e hiperuricemia fazem com que estes pacientes evoluam com hipertrigliceridemia grave (12 e 13). O uso de marcadores precoces de aterosclerose pode auxiliar neste diagnóstico

Tabela 1- Parâmetros bioquímicos e antropométricos da criança e de seus pais

Idade (anos)	Criança				Pai	Mãe
	1 mês	1 ano	2 anos	3 anos	23	23
sexo (F/M)	M				M	F
IMC (kg/m ²)	15	15	15	15	21	23
TG (mg/dL)	25.000	514	1406	922	71	107
C (mg/dL)	512	194		194	161	189
LDL-C (mg/dL)	24				107	131
Apo B (mg/dL)				91	73	123
Lp(a) (mg/dL)				2,36	2,36	2,36
Insulina (Uui/L)				3,5	2	2
PCR(mg/dL)				0,01	0,01	0,01
IL-6 (pg/mL)				3,1		

IMC= índice de massa corpórea, TG= triacilglycerol; C= colesterol total; LDL-C= lipoproteína de densidade baixa, HDL-C= lipoproteína de alta densidade; VLDL-C= lipoproteína de densidade intermediária; Lp(a)= lipoproteína (a); apoAI= apolipoproteína AI; apo B= apolipoproteína B100; HL= lipase hepática; LPL= lipoproteína lipase Valor referencial. (0-19 anos C≤170mg/dL, <10 anos: HDL-C>45mg/dL e 10-19 anos: HDL-C≥35mg/dL, <10 anos: TG≤100mg/dL e 10-19 anos: TG≤130mg/dL, em adultos C≤200mg/dL, LDL-C<100mg/dL e HDL-C>40mg/dL, glicose= 70-109mg/dL, insulina<25μIU/mL, apo A1: homens= 110-205mg/dL e mulheres= 125-215mg/dL, apo B: homens= 55-140mg/dL e mulheres= 55-125mg/dL, Lp(a) <30 mg/dL., PCR<0,01mg/dL e IL-6< 2,1pg/mL).

Tabela 2- Parâmetros bioquímicos e antropométricos da criança e de seus pais

Parâmetros	Criança						Pai	Mãe
Idade (anos)	4	4	6	6	7	15	55	35
sexo (F/M)	-	-	-	-	-	-	M	F
IMC(kg/m2)				-			28	20
Cárotida (mm)						0,50		
Dor escrotal							-	-
Pancreatite aguda							-	-
TG (mg/dL)	2886	383	4510	350	174	2808	205	85
C (mg/dL)	415	232	426	248	78	239	208	127
LDL-C (mg/dL)		102		98	25	7	107	88
HDL-C (mg/dL)	14	36	66	16	18	10	35	26
VLDL-C (mg/dL)		35			35		19	23
Apo A-I (mg/dL)					83			
Apo B (mg/dL)					43			
Glicose (mg/dL)							73	79
Insulina(uUi/L)							6	6
HL (nmol/mL/h) FFA/mL/mL/h)	500		1197				-	-
LDL-oxidada (mU/L)						30	-	-
L-6 (pg/mL)						4,2		

IMC= índice de massa corpórea, TG= triacilglycerol; C= colesterol total; LDL-C= lipoproteína de densidade baixa, HDL-C= lipoproteína de alta densidade; VLDL-C=lipoproteína de densidade intermediária; Lp(a)= lipoproteína (a); apoAI= apolipoproteína AI; apoB= apolipoproteína B100; HL= lipase hepática; LPL= lipoproteína lipase Valor referencial (0-19 anos C≤170mg/dL, <10 anos: HDL-C>45mg/dL e 10-19 anos: HDL-C≥35mg/dL, <10 anos: TG≤100mg/dL e 10-19 anos: TG≤130mg/dL, em adultos C≤200mg/dL, LDL-C<100mg/dL e HDL-C>40mg/dL, glicose= 70-109mg/dL, insulina<25µU/mL, apoA1: homens= 110-205mg/dL e mulheres= 125-215mg/dL, apo B: homens= 55-140mg/dL e mulheres= 55-125mg/dL, Lp(a)<30mg/dL, LDL-oxidada<30mU/L e carótida (mm)= 0,49±0,03 e IL-6<2,1pg/mL



As setas indicam os probandos. PM= marcador de peso molecular. Família- Poço 1- controle positivo da mutação, poço 2- (indivíduo I-1), poço 3- (probando II-1), poço 4- (indivíduo I-2) e poço 5- Controle normal para a mutação

Figura 1- Heredograma e detecção da mutação LPL Gly188Glu

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) National Cholesterol Education Program (NCEP). Highlights of the report of the expert Panel on Blood Cholesterol Levels in Children and adolescents. Pediatrics 1992; 89: 495- 501.
- 2) Cisternas JR, Monte O. Hiperlipidemias. Monte O, Longui CA, Calliari LE, editors. Endocrinologia, para o pediatra segunda edição. São Paulo. Atheneu editora; 1998 p. 271- 275.
- 3) Liberopoulos EN. Management of High Triglycerides: What non- specialists in lipids need to know. Hell J cardiol 2005; 46: 268- 272.
- 4) Kwiterovich PO. Diagnosis and management of familial Dyslipoproteinemias in children and adolescents. Pediatrics Clinics of North America 1990; 37:1489- 1523.
- 5) Decckelbaum RJ, Dupont C, Tarte JL, Pencharz P. Primary hypertriglyceridemia in childhood. Am J Dis Child 1983; 137: 396- 398
- 6) Breslow JL. Genetics of lipoprotein abnormalities associated with coronary heart disease susceptibility. Annual Rev. Genet 2000;34: 233-254.
- 7) Ravi GR. Hypertriglyceridemia and coronary artery Disease-and Update. Indian Hear Journal. 2004: 1- 10
- 8) Freitas EV. Triglicerídeos e doença arterial coronariana. Revista da SOCERJ 2004;17: 45- 51.
- 9) Fisher RC. Common variation in the lipoprotein lipase gene: effects on plasma lipids and risk of atherosclerosis. Atherosclerosis 1997; 135:145- 159
- 10) Davignon J, Norderstgaard BG. Heterozygous lipoprotein lipase deficiency. Circulation. 1996; 1737-1743.
- 12) Evans V, Kastelein IJ. Lipoprotein lipase deficiency-rare or common? Cardiovasc Drugs Ther 2002; 16:283-7.
- 13) Greenspan FS, Strewler GJ. Dislipidemias. In: Endocrinologia Básica e clínica. 5^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.p. 501- 521.

5- DISCUSSÃO GERAL

A lesão aterosclerótica inicia-se na infância e, portanto, é importante estabelecer a prevalência das dislipidemias nessa faixa etária tanto para o diagnóstico e tratamentos precoces. É descrito na literatura que o risco cardiovascular nesses pacientes estão associados a fatores como dislipidemias, obesidade, hipertensão arterial e história familiar de doença cardiovascular prematura. No Brasil, existem poucos estudos sobre a incidência das hiperlipidemias em crianças e adolescentes.

Quanto ao estudo em amostra populacional 44% dos pacientes apresentaram hipercolesterolemia, 48% hipoalfalipoproteinemia, 36% hiperbetalipoproteinemia e uma alta incidência de hipertrigliceridemia (52,3%). Também as frequências de dislipidemias mista foram altas com predomínio de hipercolesterolemia associada à hipertrigliceridemia, (34%). Sendo assim, observa-se a alta frequência de hiperlipidemias, em amostra de crianças e adolescentes ambulatoriais de Campinas e interior do Estado de SP. Esses resultados alterados poderiam ser explicados, em parte, pelo fato, do Hospital de Clínicas ser um pólo de referência de atendimento médico no Brasil e receber pacientes encaminhados de várias especialidades médicas e com doenças de complexidade diversas. Além disto, estes dados sugerem que as dislipidemias nesta região possa ser prevalente também na população geral, não hospitalar, constituindo um problema de saúde pública e indicando a necessidade de outros estudos em ambas as situações de amostragem. As hipertrigliceridemias de causas primárias são de incidência rara. Dentre aquelas que cursam com aumento de triglicerídeos séricos devem-se lembrar a deficiência de lipoproteína lipase, apo C-II e a hipertrigliceridemia familiar. Também na literatura são descritos que o aumento dos valores séricos dos triglicerídeos promova a doença arterial coronariana. A aterogenicidade da hipertrigliceridemia pode ser pelo aumento de quilomicrons e VLDL remanescentes, diminuição de HDL-C, aumento de LDL pequenas e densas, aumento de deposição subendotelial de lipoproteínas remanescentes e por diminuição da fibrinólise. Portanto é fundamental o diagnóstico precoce das hipertigliceridemias.

As doenças genéticas que cursam com hiperlipidemias são conhecidas há muito tempo, mas as suas bases moleculares têm sido compreendidas e elucidadas recentemente. Com o avanço tecnológico na área da biologia molecular muitas doenças que cursam com hiperlipidemia poderão ser compreendidas e os familiares poderão ter aconselhamento

genético precoce. Visando este aspecto procedemos a relatos de casos em dois portadores de hipertrigliceridemia grave; o diagnóstico da mutação no códon 188 do gene da lipoproteína lipase, um em homozigose e outro em heterozigose foram realizados.

Como não conseguimos obter os dados clínico-laboratoriais completos da criança homozigótica (caso 3), não foi possível totalmente estimar seu risco cardiovascular, mas a concentração sérica aumentada da interleucina-6 neste paciente, já sugere o início da repercussão aterogênica. Já que essa substância é um marcador inflamatório e pró-aterogênico. A interleucina-6 é produzida pelos fagócitos mononucleares, células endoteliais e linfócitos ativados. Ela permite que os hepatócitos produzam substâncias como a proteína-C reativa que pode estar associada com várias doenças cardiovasculares. A etiopatogenia da hipertrigliceridemia foi claramente elucidada neste caso. Seu tratamento tem sido acompanhado.

O paciente em heterozigose para esta mutação (caso 1) e sem atividade em plasma pós-heparina da lipoproteína lipase, apresenta um fenótipo extremamente original: o da epididimite recorrente e coincidente com a hipertrigliceridemia. Há apenas um caso descrito na literatura por Simons em 1983 em adulto de dor escrotal de repetição e hipertrigliceridemia.

Como a heterozigose não explica a hipertrigliceridemia severa, sugerimos que seja portador de heterozigose composta e para tal o sequenciamento do gene da lipoproteína lipase está sendo realizado para o diagnóstico etiopatogênico. Este paciente apresentou aumento do espessamento da camada íntima-média das carótidas (15% acima do valor esperado para a faixa etária). Também a LDL-oxidada mostrou-se aumentada para a idade (mesmo valor esperado para adultos) o que sugere já a repercussão aterogênica. Esta criança tem sido rigorosamente acompanhada por médicos, psicólogos e nutricionistas para adesão à dieta. Apesar da ingestão diária de 70-75% de carboidratos, 20-25% de proteínas e 1% a 2% de lipídes o paciente pouco aderente à dieta vem evoluindo com hipertrigliceridemia grave. O paciente já apresentou episódios de pancreatite que é a maior causa de mortalidade na deficiência de lipoproteína lipase. O paciente é portador da mutação no códon 188 do gen da lipoproteína lipase que está relacionado com aumento do risco cardiovascular e pela aterogenicidade da hipertrigliceridemia há piora do prognóstico deste paciente quanto à evolução da doença aterosclerótica.

O terceiro paciente, portador (caso 2) de hipertrigliceridemia familiar, apresenta deficiência relativa da atividade de lipoproteína lipase. A LDL-oxidada e a dosagem sérica da interleucina-6 foram indicativas de aumento de risco para a doença arterial aterosclerótica. Em função da refratariedade ao tratamento dietético e ao tipo da dislipidemia recebeu fibratos com melhora relativa.

Foi realizado um estudo das mutações nos códons 188, 291,9 e 174 do gene da lipoproteína lipase nos pacientes com hipertrigliceridemia familiar, mas os resultados foram negativos. O laboratório de biologia molecular está seqüenciando o gene da lipoproteína lipase para localizar a mutação e explicar a hipertrigliceridemia.

Um dos grandes desafios que encontramos para com estes pacientes é a sua adesão à dieta e o tratamento depende desta. Parte do trabalho nas consultas é a conscientização dos riscos inerentes à hipertrigliceridemia grave.

Destacamos os aspectos mais relevantes deste estudo:

- O levantamento de amostra populacional ambulatorial com número grande crianças e adolescentes brasileiros, 2031;
- O relato do fenótipo clínico de epididimite de repetição, secundária à hipertrigliceridemia severa;
- A primeira descrição no Brasil da mutação Glu188Gly do gene da lipoproteína lipase;
- O uso de marcadores precoces da aterosclerose quer bioquímicos, quer antropométricos.

6- CONCLUSÕES GERAIS

I- A alta frequência de dislipidemias em crianças e adolescentes da região de Campinas, São Paulo, Brasil atendidos no Hospital de Clínicas apontam para a necessidade da realização de outros estudos no Brasil, para a caracterização das hiperlipidemias nessa faixa etária.

Sendo assim, sugere-se que as dislipidemias constituam um grave problema de saúde pública em crianças e adolescentes brasileiros de Campinas e região.

II- Este trabalho também aponta, no estudo de casos, para a necessidade de seu diagnóstico bioquímico precoce, de sua monitorização clínico-laboratorial, incluindo o uso de marcadores precoces da aterosclerose e de seu tratamento, para um melhor prognóstico e tratamento aos pacientes.

As dislipidemias de causas genéticas dos casos deste trabalho levaram à repercussões pró-ateroscleróticas, indicando a importância de seu diagnóstico e tratamento precoces.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIFADEL, M.; JAMBART, S.; ALLARD, D.; RABES, J.P.; VARRET, M.; DERRÉ, A.; CHOUERY, E. Identification of the first Lebanese mutation in the LPL gene and description of a rapid detection method. **Clinic Genet**, 65: 158-161, 2004.

BARTH, J.A.; DECKELBAUM, R.J.; STARC, T.J.; SHEA, S.; MOSCA, L.; BERGULUND, L. Family history of early cardiovascular disease in children with moderate to severe hypercholesterolemia: Relationship to lipoprotein(a) and low- density lipoprotein cholesterol levels. **J Lab Clin Med**, 133: 237- 44, 1999.

BARTENS, W.; RADER, D.J.; TALLEY, G.; BREWER, B. Decreased plasma levels of lipoprotein(a) in patients with hypertriglyceridemia. **Atherosclerosis**, 108: 149- 57, 1994.

BERHMAN, R.E.; KLIEGMAN, R.M.; ARVIN, A.A. Distúrbios do Metabolismo e Transporte das lipoproteínas. In: Terbakovec, A. M. **Tratado de Pediatria**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.p.447

BEHREN, B.E.; CLEE,S.M.; PINSTONE, N.; et al. Ethnic variation and in vivo effects of The 93t g promoters variant in the lipoprotein lipase gene. **Arterioscler. Thromb.Vasc. Biol**, 17: 2672- 2678, 1997.

BELAY, B.; BELAMARICH, P.; RACINE, A.D. et al. Pediatric precursors of adults atherosclerosis. **Pediatrics in Review**, 25(1): 4-16, 2004.

BERGERON, J.; NORMAND, T.; BHARUCHA, A ., et al. Prevalence, geographical distribution and genealogical investigations of mutation 188 of lipoprotein lipase gene in the French Canadian population of Quebec. **Clin Genet**, 41: 206-10, 1992

BRESLOW, J.L. Genetics of lipoprotein abnormalities associated with coronary heart disease susceptibility. **Annu. Rev. Genet**, 34: 233- 254, 2000.

BREUER, H.W. Hypertriglyceridemia: A review of clinical relevance and treatment options: focus on cerivastatin. **Current Medical Research And Opinions**, 17: 60-73,2003.

BRICARELLO, S.G.A.; BRICARELLO, L.P.; ALVES, R.C. Conduta diagnóstica e terapêutica nas hiperlipidemias em Pediatria. **Pediatria Moderna**, 12:929-943, 1999.

BRUNZELL, J.D.; BIERMAN, E.L. Chylomicronemia Syndrome. *Medical Clinics of North America*, 66: 455-68, 1982

II Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias. **Arq Bras Cardiol**, 67:1-16, 1996.

COOK, D.G.; MENDALL, M.A.; WHINCUP, P.H. CAREY, I.M.; BALLAM, L.; MORRIS, J.E.; MILLER,G.P.; STRACHAN, D. C-reactive protein concentration in children: relation to adiposity and other cardiovascular risk factors. **Atherosclerosis**, 149: 139-50, 2000.

CORONELLI, C.L.S.; MOURA, E.C. Hipercolesterolemia em escolares e seus fatores de risco. **Rev Saúde Pública**; 37:24-31, 2003.

CISTERNAS, J.R.; MONTE, O. Hiperlipidemias. In: MONTE, O.; LONGUI, C.A, CALLIARI, L.E. **Endocrinologia para o pediatra**. São Paulo: Atheneu, 1998. p. 271- 275.

DAVIS, P.H.; DAWSON, J.D.; RILEY,W.; LAUER, R.M. Carotid Intimal-Medial Thickness Is related to Cardiovascular Risk Factors Measured From Childhood Through Middle Age. **Circulation**, 104: 2815-19, 2001.

DECKELBAUM, R.J.; DUPONT, C.; TARTE, J.L.; et al. Primary hypertriglyceridemia in childhood. **Am J Dis Child**, 137: 396- 98,1983.

EHARA, S.; UEDA, M.; NARUKO, T. Elevated level of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severithy of acute coronary syndromes. **CIRCULATION**, 103: 1955- 1960, 2001.

ENGLER, M.M.; MALLOY, M.J.; CHIU, E.Y.; STUEHLINGER, M. Antioxidant vitamins C and E Improve Endothelial Function in Children with Hyperlipidemia. **Circulation**, 103: 1059- 63, 2003.

ETIÉNE, J. La liporotéine lipase. **Ann Biol Clin**, 42: 179-97, 1984.

EVANS, V.; KASTELEIN, J.J.P.; Lipoprotein lipase deficiency-rare or common? **Cardiovascular drugs and therapy**, 16283: 283- 287, 2002.

FONSECA, J.C; F.; LEVY, E.; GODARD, M. et al. Familial lipoprotein lipase deficiency in infancy: Clinical, biochemical and molecular study. **The Journal of Pediatrics**, 133: 417- 422, 1998.

FORD, E.S. C- Reactive Protein Concentration and Cardiovascular Disease Risk Factors in Children, **Circulation**, 108: 1053- 58, 2003.

FORTI, N.; ISSA, J.; DIAMENT, J.; GIANNINI. S.D. Dislipidemias em Crianças e Adolescentes, Bases para a Terapêutica. **Arq Bras Cardiol**, 71(6):807-811, 1998.

FRANÇOSO, L.A.; COATES, A. Evidências Anatomopatológicas do Início da Aterosclerose na Infância e Adolescência. **Arq Bras Cardiol**, 78(1): 131-36, 2000.

FREITAS, E.V. Triglicerídeos e doença arterial coronariana. **Revista da SOCERJ**, 17:45-51, 2004.

GAZIANO, J.M.; HENNEKENS, C.H.; DONNELL, C.J.; BRESLOW, J.L.; BURING, J.E. Fasting triglycerides, High- Density Lipoprotein, and Risk of Myocardial Infarction. **Circulation**, 96:2520-2525, 1997.

GERMAIN, A. M.; IRRIBARRA, V.; VALDES, G.; ROMANIK, M.C.; Leighton, F. M.; MARDONES, F.; CUEVAS, A. Evaluacion ultrasonografica de la funcion endotelial en niños y adultos chilenos. **Rev Med Chile**, 132:437-44, 2004.

GILBERT, B.; MUSTAFA, R.; GRIGLIO, S.; Lipoprotein lipase deficiency: a new patient homozygote for the prepoderant mutation Gly188Glu in the human LPL gene and review of reported mutation: 75% are clustered in the exons 5 and 6. **Annales de Génétique**, 44: 25-32, 2001.

- GINSBERG, H.N. Lipoprotein physiology. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, 27(3):503-519, 1998.
- GOLDBERG, I.; MERCKEL, M.; ECKEL, R.H. LPL: Genetics, lipid uptake and regulation. **Journal of lipid Research**, 43: 1202-1208, 2002
- GREENSPAN, F.S.; STREWLER, G.J.; Distúrbios do Metabolismo das Lipoproteínas. In: KANE, J.P.; MALLOY, M.J. **Endocrinologia Básica e Clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.501-520.
- GLOWINSKA, B.; URBAN, M.; KOPUT, A.; GALAR, M. New atherosclerosis risk factors in obese, hypertensive and diabetic children and adolescents. **Atherosclerosis**, 167: 275- 286, 2003.
- HENDERSON, H. E.; LIU, M.S.; LEWIS, I.; MAEDER, D.L. et al. STRUCTURE-FUNCTION RELATIONSHIPS OF LIPOPROTEIN LIPASE: mutation analysis and mutagenesis of the loop region. **Journal of Lipid Research**, 34:1593-1602, 1993.
- HIRAGA, T.; OKUBO, M.; KOBAYASHI, T.; NAKANISHI, K.; SUGIMOTO, T.; MURASE, T. Serum Lipoprotein(a) Levels Differ in Different Phenotypes of Primary Hyperlipoproteinemia. **Metabolism**. 42:1327-30, 1993.
- HOKANSON, J.E. Functional variants in the lipoprotein lipase gene and risk of cardiovascular disease. **Current. Opinion in Lipidology**, 10:393- 399, 2002.
- HUMPHRIES SE, NICAUD V, MARGALEF. Lipoprotein lipase gene variation is associated with a paternal history of premature coronary artery disease and fasting and postprandial plasma triglycerides. **Artheroscler. Thromb. Vasc. Biol**, 18: 526-534, 1998.
- IHARA,S.S.M.; PINTO, L.E.S.; LOPES, I.E.L.; IZAR,M.C.; FILHO, W.S.; MARTINEZ, T.L.R. Aterogênese. In: Martinez, T.L.R. **Manual de condutas clínicas em dislipidemias**. Rio de Janeiro: Medline, 2003.p. 47-51.
- KWITEROVICH, P.O.; BARTON, B.A.; MCMAHON, R.P.; OBARZANEK, E.; HUNSBERGER, S.; MORTON, D.S. et al. Effects of Diet and Sexual Maturation on Low-Density Lipoprotein Cholesterol During Puberty. **Circulation**, 96(8):2526-2533, 1997.

WALRAVEN, L.A.; KLERK, J.B.C. Severe acute necrotizing pancreatitis associated with lipoprotein lipase deficiency in childhood. **Journal of Pediatric Surgery**, 38: 1407-1408, 2003.

LAUER, R.M.; FINBERG,L.; KWITEROVICH, P.O.; MCBRIDE,P.E.; SCHIEKEN, R.M.; SCOTT, L.W. Appendix B: Rationale for screening Recomendations. **Pediatrics**, 89 (3):525-536, 1992.

LIBBY, P.; RIDKER, P.M.; MASERI, A. Inflammation and Atherosclerosis. **Circulation**, 105: 1135- 143, 2002.

LIMA, J.C.C.L.; PICHETH, G.; SCARTEZINI M.; SILVA, M.; CORREIA, L.C.L.S.; PINTO, L.E.S. et al. Interpretação laboratorial e metodologias. In: MARTINEZ, T.R.L. **Manual de condutas clínicas em Dislipidemias**. Rio de Janeiro: Diagraphic editora, 2003.p.73- 103.

MAHLEY, R.W.; WESGRABER, K.H.; FRARESE, R.V. Disorders of lipids metabolism.In: WILLIAMS, R.H. Williams Textbook of Endocrinology: EUA. W.B. Saunders, 2003.p.1642-1706.

MEDICAL ENCYCLOPEDIA: banco de dados. Disponível em: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/imagespages/18051.htm>. Acesso em 21/07/2004.

MEDICINA PREVENTIVA: banco de dados. Disponível em: www.medicinapreventiva.com.br/laboratorio/trigliceridos.htm. Acesso em: 23/10/2005.

MERKEL, M.; ECKEL,R.H.; GOLDBERG,I. Lipoprotein lipase: genetics, lipid uptake, and regulation. **Journal of Lipid Research**, 13: 1997-2006,2002.

National Cholesterol Education Program: Report of the Expert Panel on Blood Cholesterol levels in children and adolescents. **Pediatrics**, 89 (3):525-84, 1992.

National Cholesterol Education Program (NCEP). Third Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). **Circulation**, 24:3144-421,2002.

JARVISALO, M.J.; RONNEMAA, T.; VOLANEN, I.; KAITOSAARI, T.; KALLIO, K.; HARTIALA, J.J.; IRJALA, K.; VIIKARI, J.S.; SIMELL, O.; RAITAKARI, T. Brachial artery dilatation responses in healthy children and adolescents. **AM J Physiol Heart Circ Physiol**, 28287-H92, 2002.

JARVISALO, M.J.; HARMOINEN, A.; HASANEN, M.; PAAKKUNAINEN, U.; VIIKARI, J.; HARTIALA, J.; LEHTIMAKI, T.; SIMELL, O.; RAITAKARI, O.T. Elevated serum C- Reactive Protein Levels and Early Arterial Changes in Healthy Children. **Artheroscler Thromb Vasc Biol**, 22: 1323- 1328, 2002.

YANG, C.Y.; RAYA, J.L.; CHEN, H.H.; CHEN, C.H.; ABE, Y.; POWNALL, H.J. ET AL. Isolation, characterization, and functional assessment of oxidatively modified subfractions of circulating low-density lipoproteins. **Artheroscler Thromb Vasc Biol**, 23:1083- 90, 2003

MAILLY, F.Y.T.; REYMER, P.W.; A common variant in the gene for lipoprotein lipase. Functional implications and prevalence in normal and hyperlipidemic subjects. **Artheroscler. Thromb. Vasc. Biol**, 15: 468-478, 1995

MANNINEN, V.; TENKANEN, L.; KOSKINEN, P.; HUTTUNEN, J.K.; MÄNTTÄRI, M.; HEINONEN, O.P.; FRICK, M.H. Joint Effects of Serum Triglycerides and LDL Cholesterol and HDL Cholesterol Concentrations on Coronary Heart Disease Risk in the Helsinki Heart Study. **Circulation**, 85:37-45, 1993.

MARANHÃO, R.C. Metabolismo lipídico. **Arq Bras Cardiol**, 77(III): 1-43, 2001.

MELLIES, M.; GLUECK, C.J. Lipids and Development of Atherosclerosis in Children. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, 2(1): S298-303, 1983.

MIKHAEL, KOHN.; JACOBSON, M.S. Cholesterol (and cardiovascular risk) in adolescence. **Curr Opin Pediatr**, 16: 357- 62, 2004.

MORRISON, J.; BARTON, B.A.; BIRO, F.M.; SPRECHER, D.L. The Conjoint Trait of Low High- Density Lipoprotein Cholesterol and High Triglycerides in Adolescent Black and White Males. **Metabolism**, 47:514-521, 1998.

MEISSNER, T.; MAYATEPEK, E. Recurrent excessive transient hypertriglyceridaemia. **Eur J Pediatr**, 158: 683- 688, 1999.

MINNICH, A.; KESSLING, A.; ROYN, M. et al. Prevalence of alleles encoding defective lipoprotein lipase in hypertriglyceridemic patients of French Canadian descent. **J. Lipid Res**, 36: 117- 124, 1995

NAKANDAKARE, E.R.; QUINTÃO, E. Alterações do Metabolismo Lipídico na Criança e no Adolescente. In: SETIAN, N. **Endocrinologia Pediátrica**. São Paulo: Sarvier, 1998.p.245-254.

MOENS, A.N.; GOOVAERTS, I.; CLACYS, M.J.; VRINTS, C.J. Flow-Mediated Vasodilatation. **CHEST**, 127: 2254- 2263, 2005.

MUSTAFA, G.; KHAN, P.A.; MUHAMMAD, A. et al. Hypertriglyceridemia in pediatrics. **JCPS**, 13: 57- 58, 2000

MURTHY, V.; JULIEN, P, GAGNE.; MOLECULAR PATHOBIOLOGY OF LIPOPROTEIN LIPASE GENE. **PHARMACOL THER**, 70: 101- 135, 1996.

NG, P.C.; LAM, C.W.K.; FOK, T.F. et al. Deceptive hyperbilirrubinemia in a newborn with familial lipoprotein lipase. **Journal of Pediatrics and Child Heath**, 37: 314, 2001

OBISESAN, T.O.; ALIYU, M.H.; ADEDIRAN, A.S.; BOND, V.; MAXWELL.; ROTIMI, CN. Correlates of serum lipoprotein (a)in children and adolescents in the United States. The Third National Heath Nutrition and Examination Survey. **Lipids in Heath and Disease**, 29(3): 1-17, 2004.

PELLANDA, L.C.; ECHENIQUE, L.; BARCELLOS, L.M.A.; MACCARI, J.; BORGES, F.K.; ZEN, B.L. Doença cardíaca isquêmica: a prevenção inicia durante a infância. **Jornal de Pediatria**, 78(2): 91-6, 2002.

RAITAKARI, O.T.; JUONALA, M.; KAHONEN,M.; TAITTONEN, L.; LAITINEN, T.; TORKKO, N.M. et al. Cardiovascular Risk Factors in Childhood and Carotid Artery Intima- Media Thickness in Adulthood. **JAMA**, 290(17):2271-320, 2003.

RAVI GR. Hypertriglyceridemia and coronary artery Disease-and Update. **Indian Heart Journal**. 2004: 1- 10.

REINA, M.; BRUNZEL, J.D.; DEEB, S. Molecular Basis of familial chylomicronemia mutations in the lipoprotein lipase and apolipoprotein C- II genes. **Journal of Lipid Research**, 33: 1823-832, 1992.

RIDKER, P.M.; CANNON, C.P.; MORROW, D. C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. **N Engl Méd**, 352(1):20-8,2005.

ROMALDINI, C.C.; ISSLER, H.; CARDOSO, A.L.; DIAMENT, J.; FORTI, N. Risk factors for atherosclerosis in children and adolescents with family history of premature coronary artery disease. **Jornal de Pediatria**, 80(2): 135-140, 2004.

ROSENSON, R.S. Statins in atherosclerosis: lipid lowering agents with antioxidant capabilities. **Atherosclerosis**, 173: 1-12, 2004.

ROSS, R. The pathogenesis of atherosclerosis perspective for the 1990s. **Nature**, 362: 801-09, 1993.

SASS, C.; HERBETH, B.; CHAPET, O.; SIEST, G.; VISVIKIS, S.; ZANNAD, F. Intima-media thickness and diameter of carotid and femoral arteries in children, adolescents and adults from the Stanislas cohort:: effect of age,sex, anthropometry and blood pressure. **Journal of Hypertension**, 16: 1593-1602, 1998.

SCARTEZINI, M.; KISTLER, G.; SALGADO, W.; IHARA, S.S.M.; PINTO, L.E.S.; TORRES, K.T. et al. Metabolismo dos lípides e lipoproteínas. In: MARTINEZ, T.R.L. **Manual de condutas clínicas em Dislipidemias**. Rio de Janeiro: Diagraphic editora, 2003.p.21-33.

SHIMADA, K. The levels of oxLDL can serve as an independent and significant predictor for future CE in patients withy documented CAD prospectively. **Atherosclerosis**, 174: 343- 347, 2004;

STARY, H.C. Lipid and Macrophage accumulation in arteries of children and the development of atherosclerosis. **Am J Clin Nutr**, 72: 1297S-306S, 2000.

STRONG, J.P.; MALCOM, G.T.; MCMAHAN, C.T.; TRACY, R.E.; NEWMAN, W.P.; HERDERICK, E.E. et al. Prevalence and Extent of Atherosclerosis in Adolescent and Young Adults. **JAMA**, 281: 727-35, 1999.

SZAMOSI, TAMAS.; MIHAL, KLARA, MIHAL.; PETO, J.; MAKARY, KRAMER, J. Potential Markers of the atherosclerotic process in high- risk children. **Clin Biochem**, 24: 185- 187, 1991.

SLYPER, A.H. WHAT Vascular Ultrasound Testing Has Revealed about Pediatric Atherogenesis, and a Potential Clinical Role for Ultrasound in Pediatric Risk Assessment. **The Journal of Clinical Endocrinology e Metabolism**, 89: 95, 2004.

TORNVALL, P.; OLIVECRONA, G.; KARPE, F. Lipoprotein lipase mass and activity in plasma and their increase after heparin are separate parameters with different relations to plasma lipoprotein. **Atheroscler. Thromb. Vasc Biol**, 15: 1086- 1090, 1995.

THOMPSON, G.R. Primary hyperlipidaemia. **British Medical Bulletin**, 46: 986- 1004, 1990.

WALRAVEN, L.A.; KLERK, J.B.C. Severe acute necrotizing pancreatitis associated with lipoprotein lipase deficiency in childhood. **Journal of Pediatric Surgery**, 38: 1407-1408, 2003.

WATANABE, H.; MIYASHITA, Y.; MURANO, T.; Pré-heparin serum lipoprotein lipase mass level. The effects of age, gender and types of hyperlipidemias. **Atherosclerosis**, 145: 45-50, 2000.

WILSON, DANA. E.; EMI, M.; IVERIUS, P-H. et al. Phenotypic expression of heterozygous lipoprotein lipase deficiency in the extended pedigree of a proband homozygous for a missense mutation. **The Journal of Clinical investigation**, 86:735- 50, 1990.

VILAR, L.; CASTELLAR, E.; MOURA, E. et al. Investigação diagnóstica das Dislipidemias. In: Machado, A.M. **Endocrinologia Clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.p. 705- 28.