

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica e Ciências da Saúde

Área de Concentração em Geriatria

Dissertação de Mestrado

**DIFERENÇAS NO EFEITO DA FLUVASTATINA
NA DISTRIBUIÇÃO DE SUBCLASSES DE
LIPOPROTEÍNAS EM PACIENTES
DISLIPIDÊMICOS COM DOENÇA ARTERIAL
CORONARIANA NORMO E
HIPERTRIGLICERIDÊMICOS**

Ana Paula Zamboni

Porto Alegre

2006

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica e Ciências da Saúde

Área de Concentração em Geriatria

Dissertação de Mestrado

**DIFERENÇAS NO EFEITO DA FLUVASTATINA NA DISTRIBUIÇÃO DE
SUBCLASSES DE LIPOPROTEÍNAS EM PACIENTES DISLIPIDÊMICOS COM
DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA NORMO E HIPERTRIGLICERIDÊMICOS**

Aluna: Ana Paula Zamboni

Orientador: Prof. Dr. José Luiz da Costa Vieira

Co-orientador: Prof. Dr. Emílio H. Moriguchi

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica e Ciências da Saúde, Área de Concentração em Geriatria, da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre em Medicina.

Porto Alegre

2006

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

Z24d Zamboni, Ana Paula

Diferenças no efeito da fluvastatina na distribuição de subclasses de lipoproteínas em pacientes dislipidêmicos com doença arterial coronariana normo e hipertrigliceridêmicos / Ana Paula Zamboni; orient. José Luiz da Costa Vieira; co-orient. Emílio H. Moriguchi. Porto Alegre: PUCRS, 2006. 74f.: tab.

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Área de concentração: Geriatria.

1. ARTERIOESCLEROSE CORONÁRIA. 2. DISLIPIDEMIAS. 3. CORONARIOPATIA/quimioterapia. 4. FLUVASTATINA. 5. HIPERTRIGLICERIDEMIA. 6. EPIDEMIOLOGIA EXPERIMENTAL. I. VIEIRA, JOSÉ LUIZ DA COSTA. II. MORIGUCHI, EMILIO H. III. Título.

C.D.D. 616.123

C.D.U. 616.13-004.6(043.3)

N.L.M. WG 300

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aos meus pais José Carlos e Teresinha Zamboni por seu carinho e por terem me dado a oportunidade de concretizar mais este sonho.

Ao meu noivo Rodrigo agradeço todo amor, carinho e compreensão.

À minha querida amiga Thatiana Dal Toé, que esteve comigo durante todas as etapas desta conquista, agradeço pela amizade sincera que a distância não é capaz de separar.

Aos meus colegas da geriatria da PUCRS agradeço pelos momentos maravilhosos que ficarão sempre na lembrança.

Ao Dr. Emílio Moriguchi, agradeço sua confiança, carinho, continuado incentivo e aconselhamento dado a este trabalho. Muito obrigada!

Ao Dr. José Luiz da Costa Vieira, meu orientador e amigo, minha eterna admiração e respeito. Obrigada pelo seu incentivo, paciência, carinho e confiança depositada. Sua dedicação e profissionalismo tornaram esta jornada muito mais agradável. Devo e dedico ao senhor toda esta conquista. Agradeço a Deus por ter colocado pessoas como o senhor no meu caminho. Muito obrigada por tudo, sem o senhor nada disso seria possível.

SUMÁRIO

I - BASE TEÓRICA	7
RELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE TRIGLICERÍDEOS COM O PERFIL DE DISTRIBUIÇÃO DE SUBCLASSES DE LIPOPROTEÍNAS E SUA ASSOCIAÇÃO COM RISCO CARDIOVASCULAR.....	7
1. INTRODUÇÃO	8
2. METABOLISMO DAS LIPOPROTEÍNAS	12
2.1 CICLO EXÓGENO	12
2.2 CICLO ENDÓGENO: TRANSPORTE DE LIPÍDIOS DE ORIGEM HEPÁTICA	14
2.3 CICLO ENDÓGENO: TRANSPORTE REVERSO DO COLESTEROL: AS HDL.....	15
3. HIPERCOLESTEROLEMIA	18
4. SUBFRAÇÕES DE LIPOPROTEÍNAS	20
5. MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DAS SUBCLASSES DE LIPOPROTEÍNAS	22
6. PARTÍCULAS ATEROGÊNICAS DE LDL.....	25
7. IMPORTÂNCIA DAS ESTATINAS	27
8. INTERAÇÃO ENTRE OS FATORES DE RISCO CORONARIANOS	29
9. TRIGLICERÍDEOS, DAC E SUBFRAÇÕES DE LIPOPROTEÍNAS	33
10. EFEITO DOS HIPOLIPEMIANTES NAS SUBFRAÇÕES DE LDL.....	36
11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
II - ARTIGO PORTUGUÊS.....	50
DIFERENÇAS NO EFEITO DA FLUVASTATINA NA DISTRIBUIÇÃO DE SUBCLASSES DE LIPOPROTEÍNAS EM PACIENTES DISLIPIDÊMICOS COM DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA NORMO E HIPERTRIGLICERIDÊMICOS	50
DIFERENÇAS NO EFEITO DA FLUVASTATINA NA DISTRIBUIÇÃO DE SUBCLASSES DE LIPOPROTEÍNAS EM PACIENTES DISLIPIDÊMICOS COM DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA NORMO E HIPERTRIGLICERIDÊMICOS	51
RESUMO	52
ABSTRACT	54

INTRODUÇÃO	56
POPULAÇÃO E MÉTODOS.....	57
POPULAÇÃO.....	57
ESTUDO.....	58
ANÁLISES E TESTES LABORATORIAIS	58
ANÁLISE ESTATÍSTICA	60
RESULTADOS	60
DISCUSSÃO	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

I - BASE TEÓRICA

RELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE TRIGLICERÍDEOS COM O PERFIL DE DISTRIBUIÇÃO DE SUBCLASSES DE LIPOPROTEÍNAS E SUA ASSOCIAÇÃO COM RISCO CARDIOVASCULAR

1. INTRODUÇÃO

A alta prevalência das doenças cardiovasculares (DCV) é hoje observada mundialmente. Com o envelhecimento da população e a conseqüente alteração das faixas etárias predominantes, a mortalidade proporcional por essas doenças cresce progressivamente. No Brasil, este grupo de doenças é a primeira causa de óbito ajustado para a idade. Os dados do DATASUS de 2004 confirmam isto, evidenciando infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e outras doenças cardiovasculares como as principais causas de morte no país, responsáveis por mais de 285.000 mortes ao ano (1, 2).

Sabe-se que, quanto mais altos os níveis de colesterol plasmático, maior o risco de eventos coronarianos (3-5). A elevação dos níveis plasmáticos de LDL-C (colesterol da lipoproteína de baixa densidade), a redução do HDL-C (colesterol da lipoproteína de alta densidade) e o aumento dos triglicerídeos (TG) são fatores de risco para eventos cardiovasculares (6). Vários ensaios clínicos randomizados têm evidenciado o benefício clínico da melhora do perfil lipídico não só em pacientes com doença arterial coronariana (DAC) estabelecida (7-9), mas também naqueles com alto risco sem DAC documentada (10, 11). Estudos mais recentes demonstram que reduções nos níveis lipídicos além dos níveis anteriormente considerados ideais podem trazer ainda mais benefícios clínicos aos pacientes (12-14).

As principais classes de drogas destinadas ao tratamento das dislipidemias são: estatinas, resinas sequestradoras de ácidos biliares, fibratos, ácido nicotínico e inibidores da absorção do colesterol. Destas, a mais eficaz, bem tolerada, segura e com maior comprovação de benefício clínico é a das estatinas (15).

Mesmo o LDL-C sendo considerado um dos mais importantes fatores de risco para DAC e a base para orientar todo tratamento de hipercolesterolemia (7), muitos pacientes desenvolvem eventos coronarianos com seus níveis dentro de valores considerados normais (16). A partir disso, nos últimos anos se consolidou um progressivo conjunto de informações de que cada uma das três principais lipoproteínas – HDL, LDL e VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) – é constituída de partículas heterogêneas e diferentes entre si em relação a tamanho, densidade, composição e associação com DAC (17-21), com importância crescente sendo atribuída à influência do padrão de distribuição das subfrações das principais lipoproteínas no risco coronariano. Assim, pessoas com níveis séricos comparáveis de LDL-C e HDL-C podem apresentar níveis muito diferentes de risco para DAC devido às diferenças na distribuição de subclasses de lipoproteínas (22).

Austin e colaboradores (17) demonstraram que um padrão de distribuição de subclasses de LDL, caracterizado por predomínio de partículas pequenas e densas de LDL, padrão B, está associado com aumento do risco de infarto do miocárdio e que isto correlaciona-se com o aumento da concentração de IDL-C (colesterol da lipoproteína de densidade intermediária), VLDL-C, TG e com a diminuição da concentração de HDL-C. Observa-se que a hipertrigliceridemia aparece concomitantemente ao aumento das partículas pequenas e densas de

LDL, ou seja, ocorre uma relação inversa entre a concentração plasmática dos TG e o tamanho médio das partículas de LDL (23, 24). Já o padrão A caracteriza-se pelo predomínio de LDL grandes e flutuantes (menos aterogênico). O padrão B de distribuição representa um risco cardiovascular maior que o padrão A.

Entre as drogas hipolipemiantes, apenas os fibratos e o ácido nicotínico foram comprovadamente capazes de melhorar o padrão de distribuição das subclasses de lipoproteínas (25-35). A influência das estatinas na distribuição de subclasses de lipoproteínas ainda é tema controverso, apresentando dados divergentes na literatura. Em vários estudos, as estatinas não alteraram significativamente a distribuição e a composição anormais das partículas de LDL e HDL, enquanto em outros foi observada alteração (36-48). Isto poderia ser explicado pelo fato de os fibratos serem usados quase que exclusivamente em pacientes com hipertrigliceridemia, a maioria com padrão de distribuição de subclasses de lipoproteínas desfavorável e predomínio de partículas de LDL pequenas e densas, enquanto as estatinas são usadas em pacientes com hipercolesterolemia, tanto normotrigliceridêmicos (com padrão de subclasses menos aterogênico) como hipertrigliceridêmicos (com padrão de distribuição de subclasses mais aterogênico). É possível que seja este o ponto que tenha impedido a demonstração clara da influência das estatinas no padrão de distribuição de subclasses de lipoproteínas, com a melhora daqueles pacientes com padrão mais aterogênico sendo diluída entre aqueles já inicialmente com um padrão menos aterogênico.

À medida que existem controvérsias na literatura sobre o efeito das estatinas no perfil de subclasses de lipoproteínas e que este efeito poderia ser

dependente da presença basal de um perfil mais aterogênico que está associado a níveis elevados de TG, o objetivo deste estudo é analisar se os níveis séricos basais de TG podem corresponder a um bom marcador do efeito das estatinas na distribuição de subclasses de lipoproteínas.

2. METABOLISMO DAS LIPOPROTEÍNAS

Os lipídios, por serem substâncias hidrófobas, necessitam de um sistema de transporte que lhes possibilite o deslocamento na corrente sanguínea. As lipoproteínas são as responsáveis por este transporte e são compostas por um núcleo lipídico apolar e uma capa composta de fosfolípidos e apolipoproteínas (apo). Este núcleo apolar é envolto por uma superfície polar constituída por fosfolípidos, colesterol livre e por apolipoproteína (49).

As lipoproteínas plasmáticas apresentam diferentes densidades, de acordo com a quantidade de proteínas e lipídios que os compõe. Através de ultracentrifugação, podem-se identificar cinco tipos de lipoproteínas plasmáticas:

- Quilomicra (QM)
- Lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL)
- Lipoproteínas de densidade intermediária (IDL)
- Lipoproteínas de baixa densidade (LDL)
- Lipoproteínas de alta densidade (HDL)

2.1 CICLO EXÓGENO

Os QM são compostos predominantemente por TG provenientes da dieta em 90% do seu peso e envoltos por uma monocamada de fosfolípidos. A

proporção de colesterol no QM é de apenas 1-2% do peso, variando conforme a quantidade deste lipídeo ingerida na refeição.

Os QM recém formados no enterócito saem para a linfa, passando então para a circulação sistêmica, onde, na superfície endotelial dos capilares, ligam-se às moléculas de lipase lipoprotéica (LPL) (50). Através desta enzima, os TG dos QM são hidrolisados até ácidos graxos livres e glicerol. Esses lipídeos simples são absorvidos pelas células de tecidos como o muscular e o adiposo, onde são reesterificados, ou seja, transformados novamente em TG para armazenamento.

Dessa forma, os TG são estocados no citoplasma das células do tecido adiposo que é o grande repositório de energia do organismo face aos períodos de jejum. Essa energia pode ser mobilizada a qualquer momento pela ação da lipase hormônio sensível: os TG intracelulares são hidrolisados e os ácidos graxos resultantes são levados pela corrente circulatória ao fígado, conjugados à albumina (51).

Após a ação da LPL, a partícula do QM, depletada da maior parte do seu conteúdo de TG, dela se desliga, voltando à corrente sangüínea. Este subproduto do metabolismo da QM é denominado remanescente de quilomícron (rQM). Os rQM são removidos pelo fígado por receptores de partículas remanescentes ou receptores de LDL (50).

2.2 CICLO ENDÓGENO: TRANSPORTE DE LIPÍDIOS DE ORIGEM HEPÁTICA

Conforme exposto, a principal fonte de ácidos graxos durante o jejum é o tecido adiposo, que por meio da lipase hormônio sensível hidrolisa TG e libera ácidos graxos livres, que são secretados no plasma. Este fluxo para o plasma é variável e dependente das atividades de outras enzimas, como lecitina-acil-transferase (LCAT), LPL, e lipase hepática (LH).

O transporte de lipídeos de origem hepática ocorre por meio da VLDL e LDL (52). As VLDL são secretadas pelo fígado possuindo um conteúdo de TG maior do que o de colesterol. A hidrólise dos TG pela LPL no leito capilar periférico é o evento inicial de seu catabolismo, de forma semelhante ao que ocorre com as QM (50). Desse modo, como consequência da ação da LPL, ocorre redução do conteúdo de TG das partículas de VLDL, que após também perderem fosfolipídeos, transformam-se em partículas de IDL. Após isso, a lipólise das IDL continua pela ação da LH, levando à formação de LDL. As VLDL trocam TG por ésteres de colesterol com as HDL e LDL por intermédio da proteína de transferência de colesterol esterificado (CETP) (53). Tanto as VLDL como as LDL serão removidas no fígado por intermédio de ligações com receptores específicos (54). Dentre eles, o receptor da LDL (rLDL) é o mais importante. A expressão destes receptores é a maior responsável pelo nível de colesterol no sangue, e está interligada à atividade da enzima hidroximetilglutaril-CoA redutase (HMG-CoA redutase) que é a enzima limitante da síntese do colesterol hepático (52). Quando o suprimento de colesterol no hepatócito diminui, maior quantidade de r-LDL é formada e maior quantidade de colesterol é sintetizado.

As lipoproteínas no plasma sofrem ação de enzimas e proteínas de transferência de lipídeos que são determinantes na sua via metabólica, tornando-as em grau variável aterogênicas ou cardioprotetoras (49).

2.3 CICLO ENDÓGENO: TRANSPORTE REVERSO DO COLESTEROL: AS HDL

O balanço metabólico do colesterol tecidual, com a remoção de seu excesso das células e da periferia (colesterol livre nas placas de ateroma), é realizado pelas partículas de HDL, e é conhecido como ciclo reverso do transporte do colesterol.

As partículas de HDL são formadas na circulação e no compartimento extravascular (55). A maior parte dos precursores da HDL é oriunda da lipólise de partículas ricas em TG, tais como VLDL e QM. A apoproteína A-I (apo A-I) representa o principal conteúdo protéico da HDL, sendo sintetizada nos hepatócitos e enterócitos. No plasma, liga-se aos componentes lipídicos provenientes das VLDL e QM, formando as HDL nascentes ou pré-beta HDL. As HDL nascentes recebem então colesterol livre e fosfolipídeos de células periféricas, caracterizando a primeira etapa do transporte reverso do colesterol e dando origem às HDL₃. Graças à ação da LCAT o colesterol transferido é esterificado, possibilitando a entrada de mais colesterol e permitindo que com a continuidade do processo se formem partículas maiores de HDL, as HDL₂. O colesterol recebido pelas HDL pode ser transferido novamente às partículas ricas em TG em troca de TG pela ação da CETP (49). Assim, as HDL são uma classe

de lipoproteínas caracterizada por ser constituída de uma diversidade de partículas com conteúdo lipídico e densidades variáveis. A interconversão destas partículas no plasma é um fenômeno contínuo.

A remoção do colesterol é realizada por duas vias. A primeira envolve a entrega seletiva de colesterol através da interação das partículas de HDL via apo AI, com os receptores SR-B1 do hepatócito criando condições para a HL atuar sobre a partícula de HDL na entrega de ésteres de colesterol para o hepatócito (56), além da captação do colesterol transportado pelas LDL (que contém também o colesterol do transporte reverso do colesterol transferido das HDL pela CETP) através dos receptores de LDL (57). No fígado, o receptor SR-B1 promove a remoção do colesterol éster das partículas de HDL para os hepatócitos. Nos tecidos periféricos, os receptores ABC-1 facilitam a remoção do colesterol das células e a entrada nas HDL (atividade antiaterogênica). A segunda via envolve a transferência de éster de colesterol da HDL para partículas ricas em TG através da CETP no metabolismo das VLDL, (49) que dará origem às LDL, e essas partículas captadas pelo fígado, através de r-LDL (58).

Os níveis plasmáticos da fração HDL são regulados por fatores genéticos e ambientais, como dieta, tabagismo e exercício físico. A composição lipídica de apolipoproteína-A da HDL também influencia a taxa de remoção da corrente circulatória bem como sua interação com a LCAT. A fração HDL₃ é o substrato preferencial da LCAT, gerando ésteres de colesterol e com a captação de mais colesterol livre a formação de partículas HDL₂. Através da ação da CETP, ocorre a troca de colesterol das HDL por TG das lipoproteínas ricas em TG – QM, VLDL e remanescentes - e, desse modo, o colesterol removido da periferia pelas HDL

podem acabar nas partículas de LDL, permanecendo na circulação, de onde pode ser levado de volta à periferia - parede arterial - ou para o fígado através da captação pelos r-LDL. Quanto maior a remoção das LDL pelos r-LDL, menor será a deposição do colesterol na parede arterial (55, 59-61).

3. HIPERCOLESTEROLEMIA

Numerosos estudos experimentais, epidemiológicos e clínicos estabeleceram claramente a associação entre dislipidemia e o aumento de risco de morte. A elevação dos níveis plasmáticos de LDL-C, a redução de HDL-C e o aumento de TG são fatores de risco para eventos cardiovasculares (6). No Brasil, assim como no mundo, as doenças cardiovasculares são a principal causa de morte (1).

Estudos com intervenções baseadas em mudança de estilo de vida, incluindo dieta, alcançaram resultados positivos no sentido de melhorar o perfil lipídico e reduzir eventos e mortalidade cardiovascular (62-64).

Em vista de muitos casos de dislipidemia não serem corrigidos satisfatoriamente apenas com dieta e mudanças de estilo de vida, medidas farmacológicas se fazem necessárias. Os primeiros estudos com drogas hipolipemiantes, apesar do benefício demonstrado na redução de eventos cardiovasculares, não mostraram resultados estatisticamente significativos em relação à redução da mortalidade por todas as causas (65, 66). Estes resultados inicialmente geraram temor de que a redução do colesterol pudesse aumentar a mortalidade por outras causas. Somente na última década, com o advento dos grandes estudos com estatinas, a segurança e os benefícios da terapia redutora do colesterol foi comprovada e os temores dissipados.

Vários ensaios clínicos demonstraram que a redução do LDL-C diminui as taxas de eventos cardiovasculares. As estatinas, a principal classe de drogas redutoras de LDL-C, podem reduzir a incidência de doença cardíaca isquêmica em 25 a 60% e o risco de morte em 30%, além de também reduzir eventos mórbidos, como angina, acidente vascular encefálico, necessidade de procedimento de revascularização miocárdica e periférica, tanto em prevenção primária quanto secundária de doenças cardiovasculares (67, 68).

O primeiro grande ensaio clínico randomizado com as estatinas, o *Scandinavian Simvastatin Survival Study* (4S), demonstrou, em pacientes com DAC, que o uso de um inibidor da HMG-CoA redutase, no caso a sinvastatina, reduziu a mortalidade total em 30% e a mortalidade por DAC em 42% (7). Posteriormente, outros estudos de prevenção primária e secundária, (8-11, 13, 69-74) consolidaram os resultados benéficos destas drogas.

As evidências não deixam dúvidas a respeito do benefício de tratar pacientes com hipercolesterolemia visando diminuir a incidência de DAC (6, 12). No entanto, até 30% dos pacientes que sofrem um infarto agudo do miocárdio têm níveis considerados normais de CT e LDL-C (75-77) o que nos leva a pensar que a dosagem do perfil lipídico não é suficiente para avaliar o risco destes pacientes.

4. SUBFRAÇÕES DE LIPOPROTEÍNAS

Há várias décadas se tem o conhecimento de que a determinação dos níveis circulantes de lipoproteínas plasmáticas é importante tanto para o diagnóstico de desordens primárias e secundárias do transporte de lipídios como para a avaliação do risco de aterosclerose e DAC (78). Em jejum, três importantes classes de lipoproteínas podem ser identificadas: VLDL, LDL e HDL, diferentes entre si em relação a tamanho, densidade e composição de lipídios e apolipoproteínas.

Embora o aumento da concentração plasmática de LDL-C seja um dos mais importantes fatores de risco para DAC (7), sendo considerado o alvo principal da terapia redutora de colesterol, muitos pacientes que desenvolvem aterosclerose e doença cardíaca isquêmica têm níveis normais de LDL-C, levando à idéia que o uso da concentração de CT e LDL-C pode não refletir o número de partículas aterogênicas circulantes no plasma (16).

Assim, gerou-se a necessidade de melhorar a precisão da avaliação do risco cardiovascular além das dosagens usualmente empregadas na prática clínica. Vários estudos mostram que as informações sobre as subclasses de lipoproteínas em adição ao perfil lipídico clássico pode agregar mais precisão na determinação deste risco (79-85).

Nos últimos anos, se consolidou a idéia de que as principais classes de lipoproteínas - VLDL, LDL e HDL - são compostas por várias subclasses. A classificação baseia-se no tamanho, densidade, conteúdo de apolipoproteína (apo) e lipídios, ou na combinação destes (20, 21).

Vários estudos observacionais sugerem que o predomínio de partículas pequenas e densas de LDL está associado com aumento de risco de DAC (17, 81-88). Assim, pessoas com níveis plasmáticos semelhantes de LDL-C e HDL-C podem apresentar riscos bem distintos para eventos coronarianos devido às diferenças no perfil de subclasses de lipoproteínas (22).

5. MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DAS SUBCLASSES DE LIPOPROTEÍNAS

Entre os métodos atualmente mais usados para a separação das subclasses de lipoproteínas estão a eletroforese por gradiente de gel (89) e a espectroscopia por Ressonância Nuclear Magnética de Prótons (RNM) (90, 91). Os estudos são controversos sobre o grau de concordância destes dois métodos quanto ao tamanho das partículas de LDL. Alguns estudos iniciais demonstram uma grande proximidade entre o tamanho das partículas medidas por RNM e eletroforese por gradiente em gel (91), porém, um estudo recente, concluiu que a concordância entre os métodos é moderada, com consideráveis diferenças entre os subgrupos de pacientes. A concordância entre as técnicas foi ainda menor em mulheres, pacientes diabéticos e pacientes com baixos níveis de TG; ou seja, a concordância dos dois métodos na distinção entre os padrões A e B pode ser limitada nestes grupos de pacientes. Qual dos métodos é o melhor preditor de risco cardiovascular ainda não está bem esclarecido (92).

Lamarche, em 1999, sugeriu que a medida do tamanho das partículas de LDL por eletroforese por gradiente de gel não melhora a habilidade em prever eventos cardíacos isquêmicos além dos alcançados com os fatores de risco tradicionais (93). Em 2001, um grande estudo prospectivo populacional confirmou que indivíduos com partículas pequenas e densas de LDL estão em

maior risco para doença cardíaca isquêmica. Este estudo também sugeriu que a caracterização das partículas de LDL por eletroforese pode melhorar a habilidade em identificar indivíduos de alto risco para eventos cardíacos isquêmicos futuros, além dos alcançados com os fatores de risco tradicionais (83).

A heterogeneidade do HDL foi descrita pela primeira vez por DeLalla, Elliott e Gofman em 1954 (94). Por eletroforese, o HDL pode ser separado em cinco subclasses: HDL_{3c} (7.2 a 7.8nm), HDL_{3b} (7.8-8.2nm), HDL_{3a} (8.2 a 8.8nm), HDL_{2a} (8.8 a 9.7nm) e HDL_{2b} (9.7-12nm) (95).

As partículas circulantes de VLDL são muito heterogêneas e podem ser separadas por eletroforese em duas subpopulações: VLDL₁ (grandes, ricas em TG) e VLDL₂ (pequenas, ricas em ester-colesterol e densas) (96). Em pacientes com TG e LDL-C elevados, as partículas de VLDL₁ acumuladas no plasma são convertidas preferencialmente em partículas pequenas e densas de LDL através de um complexo processo metabólico intravascular envolvendo CETP, LPL e HL (97-100).

A RNM é um método mais rápido, preciso e menos oneroso para determinação de subclasses de lipoproteínas (87, 91, 101-103). A quantificação das lipoproteínas por este método não é baseada diretamente no seu conteúdo de colesterol ou apolipoproteína, mas na determinação das amplitudes dos sinais de ressonância magnética emitidos por cada subclasse de lipoproteína de diferentes tamanhos. Pelo fato de a amplitude dos sinais não ser afetada pelas diferenças na composição química, acredita-se que, através da RNM, se

obtenha uma indicação direta da concentração das partículas de subclasses através de suas diferenças de tamanho (84).

A RNM explora o conhecimento da diferença no espectro natural que existe entre as subfrações de cada lipoproteína, dependente apenas do tamanho das partículas, o que possibilita uma alta taxa de rendimento e precisão na execução do exame, tornando possível calcular as concentrações de cada subclasse de lipoproteína, QM, VLDL, IDL, LDL e HDL (104).

Vários estudos apóiam a idéia de que as concentrações das subfrações de LDL por RNM são marcadores de risco para DAC. No entanto, são necessários mais estudos para avaliar o impacto das mudanças de estilo de vida e das drogas hipolipemiantes na concentração das subclasses de LDL e na relação com redução de risco (84).

6. PARTÍCULAS ATEROGÊNICAS DE LDL

Dois fenótipos distintos de subclasses de LDL, denominados A e B, são descritos, com base em eletroforese por gradiente de gel (17). O fenótipo A caracteriza-se pelo predomínio de partículas grandes e flutuantes, menos aterogênicas. Já o fenótipo B é caracterizado por predomínio de partículas pequenas e densas, mais aterogênicas (105). Estudos demonstraram que aproximadamente 65-75% da população tem predomínio de LDL grandes e flutuantes designados de padrão A; 20-30% da população tem predomínio de partículas densas e pequenas, padrão B; e uma parcela variável (15-20%) da população tem padrão intermediário (106, 107).

Os fatores que determinam o tamanho e a composição das partículas de LDL são incertos. Vários estudos têm demonstrado que o padrão fenotípico do LDL é herdado, mas fatores ambientais ou outras doenças podem também influenciar o tamanho e a composição de LDL (106-108).

O primeiro autor a propor a associação entre DAC e partículas de LDL pequenas e densas foi Austin (17). Subseqüentemente estudos prospectivos e de caso-controle mostraram que a predominância de LDL pequenas e densas aumenta o risco de DAC em sete vezes, embora em muitos destes estudos esta associação não seja independente dos fatores de risco tradicionais (77, 80-82, 109-112).

As subclasses de LDL-C, separadas por eletroforese por gradiente de gel, são sete: LDL-I (27.2 a 28.5nm), LDL-IIa (26.5 a 27.2nm), LDL-IIb (25.6 a 26.5nm), LDL-IIIa (24.7 a 25.6nm), LDL-IIIb (24.2 a 24.7nm), LDL-IVa (23.3 a 24.2) e LDL-IVb (22.0 a 23.3nm de diâmetro) (20, 89).

Tem sido bem documentado que as partículas pequenas e densas de LDL são mais suscetíveis à oxidação e são o melhor substrato para a formação de células espumosas do que as partículas flutuantes (113). Sugere-se também, que estas partículas são inerentemente mais aterogênicas, pois se ligam menos ao receptor de LDL, (114) penetram na parede arterial mais facilmente, e permanecem mais tempo no plasma (103, 115).

7. IMPORTÂNCIA DAS ESTATINAS

As estatinas agem através da inibição da enzima HMG-CoA redutase, a enzima chave na biossíntese do colesterol, resultando em redução plasmática do colesterol total (CT) e colesterol da LDL (116). Uma série de ensaios clínicos randomizados (7-11, 70, 117-120) tem estabelecido o benefício das estatinas para prevenção de eventos cardiovasculares fatais e não fatais.

Estudos angiográficos têm demonstrado, que além da significativa redução da morbi-mortalidade cardiovascular, as estatinas reduzem a progressão e podem induzir a regressão das lesões ateroscleróticas (121-123). Dependendo da dose e do tipo de estatina usada os níveis de LDL-C podem diminuir em 19% a 60%, os níveis de HDL-C aumentar em 3% a 14% e os de TG diminuir em 6% a 37% (124).

Recentemente foi publicado o estudo ASTEROID (125) que avaliou, através de ultrasson, a regressão da aterosclerose coronariana com o uso de 40mg de rosuvastatina. Neste estudo houve redução significativa do LDL-C, aumento significativo do HDL-C e regressão da aterosclerose nas 3 medidas pré-especificadas pelo ultrasson após 24 meses de tratamento.

Acredita-se que pela redução dos níveis de LDL-C as estatinas levem a diminuição da progressão da aterosclerose, o que em parte é mediado pela

captação de LDL modificada que constitui o núcleo lipídico de lesões ateroscleróticas (126). Porém, alguns estudos têm sugerido que os efeitos benéficos das estatinas podem estender-se além dos mecanismos de redução do colesterol. Em análise de subgrupos de pacientes com os mesmos níveis de colesterol após receberem placebo ou estatina nos estudos *WOSCOPS* e *CARE*, os pacientes tratados tiveram menor risco de eventos (8, 127). Meta-análises de estudos com diminuição do colesterol sugerem que o risco de infarto do miocárdio é significativamente menor nos pacientes que receberam estatina do que nos que receberam outros métodos ou drogas a despeito da redução similar dos lipídios entre os grupos (67, 128).

Os estudos HPS (*Heart Protection Study*) (72) e PROVE-IT (*Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy*) (129) foram decisivos para a mudança no Consenso Americano de 2001 e em um adendo publicado em julho de 2004, no qual sugere a opção de manter LDL-C abaixo de 70mg/dL nos indivíduos com risco muito alto para DCV.

Os efeitos pleiotrópicos das estatinas, ou seja, independentes do colesterol, ocorrem horas ou dias após o início da terapia (130), envolvendo fatores como melhora da função endotelial, estabilização das placas ateroscleróticas, diminuição do estresse oxidativo e da inflamação vascular. Muitos destes efeitos são mediados pela habilidade das estatinas em bloquear a síntese de importantes isoprenóides intermediários, como consequência da inibição da síntese do ácido mevalônico (131).

8. INTERAÇÃO ENTRE OS FATORES DE RISCO CORONARIANOS

O aumento dos níveis plasmáticos de TG, VLDL e IDL está associado com um padrão aterogênico de distribuição de subclasses de LDL, padrão B (20, 77, 106, 107). Alguns estudos mostram que a relação entre o tamanho das partículas de LDL e a incidência de doença cardíaca isquêmica tem associação com outros fatores de risco lipídicos, tais como a razão entre CT e HDL e níveis plasmáticos de TG em jejum, o que poderia indicar que esta associação não é independente (80-82).

Mykkänen et al. (132) mostrou que o tamanho da partícula de LDL não é preditor de DAC em idosos, após controle para diabetes. Isto pode ser explicado, em parte, por um viés de sobrevivência que é suportado pela baixa prevalência de indivíduos com padrão B, além do fato de o seguimento deste estudo ter sido muito curto. Outro estudo, que analisou dados do estudo *CARE*, observou que partículas grandes de LDL após ajuste para outras variáveis foram um preditor independente de recorrência de eventos coronarianos em uma população com DAC (133).

Recentemente, o predomínio de partículas pequenas e densas de LDL mostrou causar disfunção endotelial, independente dos níveis plasmáticos de LDL-C, TG e HDL-C (134). Um estudo realizado em mulheres saudáveis mostrou

que a concentração das partículas de LDL, medidas através de RNM, foi um preditor para risco cardiovascular no futuro. Neste mesmo estudo, após ajuste para HDL-C e TG, também foram preditores independentes: concentração de LDL-C, razão entre CT e HDL-C e proteína C reativa (84).

O *Quebec Cardiovascular Study* evidenciou que o risco atribuído às partículas pequenas de LDL deve ser, em parte, independente das variações concomitantes na concentração das lipoproteínas plasmáticas (82). Já no *Cardiovascular Health Study* nenhuma associação independente entre o tamanho da partícula de LDL e DAC foi encontrada entre os homens e as mulheres (87). Em um outro estudo, com idosos, o tamanho do LDL não foi preditor de DAC em análises univariadas e multivariadas (132), enquanto que a razão entre CT e HDL-C foi um preditor independente. Já Austin verificou, em idosos nipo-americanos, que partículas pequenas de LDL foram preditoras de DAC apenas na análise univariada (135). Após ajuste para TG plasmáticos e HDL-C, as partículas grandes e flutuantes é que tendem a ser preditoras de DAC. Esta observação da coorte Japonesa traz resultados concordantes com o estudo realizado por Campos e colaboradores (133), em pacientes que tiveram isquemia miocárdica, no qual as partículas preditoras de DAC fatal e recorrência de isquemia miocárdica também foram as grandes e flutuantes.

A síndrome metabólica (SM), um agrupamento de fatores de risco cardiovascular e anormalidades metabólicas, (136) está associada ao aumento de risco de DAC (137, 138). Homens e mulheres com SM têm um número elevado de partículas de LDL pequenas e densas, com este número sendo proporcional ao número de componentes da SM presentes no indivíduo. Este

padrão ocorre, em parte, devido à forte correlação entre partículas de LDL pequenas e densas, TG séricos e HDL-C. Em contraste, o LDL-C sérico não é muito diferente entre as pessoas com e sem SM (139). O ATP III não inclui o tamanho das partículas de LDL nos critérios clínicos de SM pelo fato de não se saber o quanto estas partículas são preditoras de risco cardiovascular independentemente dos TG e do HDL-C (com os quais está fortemente correlacionado) (6). Sabe-se que embora o aumento do número de partículas pequenas e densas de LDL isoladamente seja altamente preditivo de SM, um grande número destas partículas não está associado, em alguns estudos, ao aumento de risco de eventos cardiovasculares em pessoas com SM (139).

Vários estudos têm demonstrado que a resistência à insulina está associada com o aumento do número de partículas pequenas e densas de LDL. No *Insulin Resistance Atherosclerosis Study*, Goff et al (140) demonstraram, através de RNM, que a resistência à insulina está correlacionada com o aumento do número de partículas de LDL pequenas e densas. Resultados similares foram citados por Garvey e associados (141), que viram que quando comparado com indivíduos sensíveis à insulina, aqueles com resistência e diabetes têm aumento do número de partículas pequenas e densas de LDL e alta concentração de partículas de LDL total.

Há substanciais evidências de que o excesso de adiposidade, principalmente na presença de diabetes ou resistência à insulina, leva a um aumento da produção de ácidos graxos livres pelos adipócitos (142, 143). Estes ácidos graxos livres são usados na síntese dos TG pelo fígado, com conseqüente aumento na síntese e secreção de partículas de VLDL (144). Estas

partículas de VLDL representam o substrato para reações seqüenciais que podem levar a um aumento do número de LDL pequenas e densas na circulação, via ação da CETP (145, 146).

As evidências indicam que o risco de eventos cardiovasculares está associado a diversos fatores lipídicos, contudo, há controvérsias se a associação entre determinados fatores e DAC é independente ou não. Como na maioria dos estudos, o perfil das subclasses de LDL permanece preditivo de DAC após ajuste para TG e HDL-C (80-82, 109-112), hoje é bem aceito que essa relação seja independente.

9. TRIGLICERÍDEOS, DAC E SUBFRAÇÕES DE LIPOPROTEÍNAS

Em acréscimo a associação entre elevação de LDL-C e DAC, já bem estabelecida em estudos observacionais e ensaios clínicos, a atenção na elevação dos níveis de TG e na redução do HDL-C tem aumentado. Isso está ocorrendo, em parte, pela correlação metabólica entre lipoproteínas ricas em TG e HDL, com a hipertrigliceridemia freqüentemente apresentando-se em combinação com baixos níveis de HDL-C, o que foi reforçado pela publicação das diretrizes do *Adult Treatment Panel III* (ATPIII) que aumentou a ênfase na identificação de pacientes com SM (6).

Verificou-se através de ensaios clínicos (147, 148) e estudos observacionais (149) que pacientes com hipertrigliceridemia e aumento da razão LDL-C/HDL-C tem desproporcionalmente alto risco para eventos coronarianos. Em análise do *Helsinki Heart Study* (147) e do *Bezafibrate Infarction Prevention* (BIP) (148), pacientes com HDL-C baixos e TG elevados tiveram o maior benefício quanto a eventos coronarianos com o uso de fibratos.

Em 14 anos de acompanhamento do *Framingham Heart Study*, os TG foram um fator de risco independente para mulheres entre 50-69 anos (150, 151). Segundo Hokason e Austin, os TG são fortes e independentes fatores de risco para DAC (152).

Conforme já exposto previamente, atenção deve ser dada à relação entre os níveis de TG plasmáticos e o perfil de distribuição de subclasses de VLDL, LDL e HDL. Diferentes subclasses de VLDL também parecem ter forças diferentes de associação com DAC (153, 154). Níveis de TG elevados se associam a maior aumento da concentração de VLDL maiores e conduzem a reações metabólicas que levam a produção de LDL de composição anormal e HDL menores, perfil mais aterogênico (24).

Com o aumento dos níveis de TG plasmáticos há uma diminuição do diâmetro médio das partículas de LDL. Quando avaliadas por RNM percebe-se que esta redução do tamanho das partículas de LDL com níveis de TG acima de 100mg/dL é resultado de uma diminuição no nível de LDL grandes (L3) com concomitantemente aumento dos níveis de partículas de LDL pequenas e densas (L1), mais aterogênica (155). A alta prevalência do padrão A, de baixo risco, quando TG são <100 mg/dL e a correspondente alta prevalência do padrão B, de risco mais elevado quando TG são ≥ 250 mg/dL são explicados através destas mudanças nas subclasses individuais.

As lipoproteínas ricas em TG, quando presentes em concentrações elevadas trocam o seu conteúdo de TG por colesterol das HDL e LDL através da CETP (156). Dependendo dos níveis de TG e da atividade da CETP, as partículas de LDL perdem inicialmente seu conteúdo de colesterol trocando por TG, e após serem delipidadas pela lipase hepática e perderem TG, tornam-se partículas pequenas e densas.

O nível sérico dos TG afeta também as partículas de HDL e de VLDL (156, 157). Com o aumento dos níveis de TG, o tamanho e o número das

partículas de HDL diminuem (158). Com níveis de TG acima de 200 mg/dL, as subclasses maiores de HDL deixam de ser as predominantes, ocorrendo então, predomínio de HDL pequenas, menos antiaterogênicas e reduzindo-se a proteção conferida pelas HDL (157, 159).

10. EFEITO DOS HIPOLIPEMIANTES NAS SUBFRAÇÕES DE LDL

Informações a respeito das subclasses de LDL e a resposta na progressão da doença coronariana ao tratamento com hipolipemiantes foi primeiramente descrito no estudo *Stanford Coronary Risk Intervention Project (SCRIP)* (160). O *SCRIP* é um estudo de intervenção com múltiplos fatores de risco em pacientes com DAC documentada por angiografia, no qual os regimes de tratamento mais comumente usados incluíram resinas carreadoras de ácidos biliares e ácido nicotínico. Apesar dos níveis semelhantes de LDL-C no início e redução similar com a terapia, apenas os portadores de partículas de LDL pequenas e densas demonstraram redução na progressão angiográfica comparado com o grupo controle (160).

Os efeitos dos inibidores da HMG-CoA redutase nas subfrações de LDL tem sido estudado por eletroforese por gradiente de gel, ultracentrifugação e RNM (36-39, 41-48). Vários estudos não demonstraram aumento no diâmetro das LDL (39, 41, 42, 45), alguns estudos mostraram redução da concentração de LDL pequenas e densas (37) enquanto outros não (36, 38, 41, 44). A respeito da fluvastatina, dois estudos mostraram resultados negativos em relação à melhora no perfil de distribuição de subclasses de LDL (36, 45), enquanto um estudo com mulheres pós-menopáusicas mostrou que as subclasses de LDL ficaram menos aterogênicas em pacientes com risco aumentado para DAC e

perfil basal aterogênico (46). Outro estudo, realizado em pacientes com diabetes tipo 2, mostrou redução mais pronunciada das partículas de LDL pequenas e densas apenas nos pacientes com perfil mais aterogênico, com predomínio dessas partículas (47). Dois estudos também mostraram que as estatinas reduzem as partículas densas de LDL em pacientes não diabéticos que tenham predomínio deste subtipo de LDL, e em pacientes com hiperlipidemia familiar combinada (48). Deste modo, permanece a controvérsia sobre o potencial das estatinas em reduzir ou não as partículas pequenas e densas de LDL, mas há evidências sugerindo que em pacientes padrão B ocorra a redução dessas partículas.

Das drogas hipolipemiantes, há unanimidade que apenas os fibratos (25, 28-30, 43) e o ácido nicotínico (31-35) tenham potencial de alterar a distribuição das subclasses de LDL. O tratamento de pacientes com hiperlipoproteinemia IIB (elevação concomitante de LDL-C e TG plasmáticos) com fibratos resultou em normalização quantitativa e qualitativa do perfil das partículas aterogênicas pequenas e densas de LDL (161). Fenofibrato e atorvastatina diminuíram a concentração de LDL pequenas e densas em pacientes com diabetes tipo 2 e dislipidemia aterogênica (hipertrigliceridemia, redução do HDL-C e aumento do LDL-C, com predomínio de partículas pequenas e densas) (162). Um estudo com a niacina (32) evidenciou aumento da concentração de partículas grandes e flutuantes de LDL medidas por RNM na mesma proporção em que diminuiu as partículas de LDL pequenas e densas.

O *Helsinki Heart Trial* (147) indicou que o maior benefício da dieta mais genfibrozil nos eventos clínicos foi restrito a 10% dos sujeitos com TG maiores

que 204mg/dl e razão LDL-C/HDL-C maior que 5. O *CLAS (Cholesterol Lowering Atherosclerosis Study)* revelou que o benefício da intervenção com dieta, colestipol e ácido nicotínico na progressão de DAC foi restrita ao grupo com TG >190mg/dl (163). Estes dados reforçam a hipótese de que os pacientes com um perfil de distribuição de subclasses de lipoproteínas mais aterogênico responde melhor à terapia medicamentosa.

Um estudo publicado recentemente demonstrou através de RNM que, em pacientes com níveis de HDL-C baixos, o uso do gemfibrozil aumentou o tamanho e diminuiu o número das partículas de LDL enquanto que houve aumento do número de partículas totais de HDL e das subclasses menores. A concentração destas partículas, com o uso do gemfibrozil, foi um preditor significativo e independente de risco para novos eventos cardiovasculares. Este estudo ajudou a demonstrar o benefício desta terapia em pacientes com HDL-C baixo (164).

Além dos hipolipemiantes, a terapia de reposição hormonal com estrogênio oral parece diminuir a concentração plasmática de LDL grandes, sem alteração nas partículas pequenas; isto seria devido a um aumento no *clearance* plasmático das partículas de LDL grandes (165). Dietas com pouca gordura e ricas em carboidratos, comparadas com dietas ricas em gordura saturada, diminuem o tamanho das partículas de LDL (166); as subfrações pequenas e grandes diminuem sua concentração, embora a fração intermediário-pequena aumenta. Gordura insaturada, poli ou monoinsaturada, reduz levemente o tamanho da LDL, comparado com a gordura saturada (167).

As drogas que demonstraram benefício na mudança do padrão de distribuição de subclasses de lipoproteínas são drogas usadas em pacientes com hipertrigliceridemia, e, portanto com predomínio de padrão B. As estatinas são usadas predominantemente a pacientes com hipercolesterolemia, tanto com TG baixos ou elevados, portanto em populações heterogêneas quanto à presença de padrão A ou B, fato que poderia ter diluído um efeito benéfico que ocorresse só nos pacientes com perfil basal mais aterogênico. Como o padrão B está mais presente em indivíduos que têm níveis séricos de TG mais elevados e com evidências científicas de que esse padrão pode ser um bom marcador da resposta as estatinas no perfil de distribuição de lipoproteínas, o objetivo do presente estudo é avaliar se os níveis basais de TG podem ser um preditor simples e disponível na prática clínica do efeito das estatinas.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Datasus. Informações de Saúde - Mortalidade Geral. In: Ministério da Saúde.
2. Grassi P. Mortalidade Geral. In: Secretaria da Saúde e Meio Ambiente do Rio Grande do Sul - Núcleo de Informação em Saúde, editor. Estatísticas de Saúde: mortalidade 1997. Porto Alegre; 1997. p. 264.
3. Keys A, et al. Coronary Heart disease in seven countries. XV. Prognosis of coronary heart disease found at entry. *Circulation* 1970;41(suppl 4):I148-53.
4. Kannel W, Castelli W, Gordon T, McNamara P. Serum cholesterol, lipoproteins, and the risk of coronary heart disease. The Framingham Study. *Ann Intern Med* 1971;74:1-12.
5. Castelli WP, Garrison R, Wilson P, Abbott R, Kalousdian S, Kannel W. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham Study. *Jama* 1986;256(20):2835-8.
6. Expert panel on Detection E, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. (Adult Treatment Panel III). *Jama* 2001;285:2486-2497.
7. Ballantyne CM, Olsson AG, Cook TJ, Mercuri MF, Pedersen TR, Kjeldhus J. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994;344:1383-89.
8. Sacks F, Pfeffer M, Moye L, Rouleau J, Rutherford J, Cole T, et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators. *N Engl J Med* 1996;335:1001-9.
9. The long-term intervention with Pravastatin Group in Ischaemic disease. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. *N Engl J Med* 1998;339:1349-57.
10. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles C, Lorimer A, McFarlane P, et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med* 1995;333:1301-07.
11. Downs JR, Clearfield M, Weis S, Group ea-ftATR. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS. *Jama* 1998;279:1615-22.
12. Cannon C, McCabe C, Belder R, Breen J, Braunwald E, McCabe C, et al. Design of the Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy (PROVE IT)- TIMI 22 trial. *Am J Cardiol* 2002;89:860-1.
13. LaRosa J, Grundy S, Waters D, Shearr C, Barter P, Fruchart J, et al. Treating to New Targets (TNT) Investigators Intensive lipid lowering with atorvastatin in patients with stable coronary disease. *N Engl J Med* 2005;352(14):1425-35.

14. LaRosa JC, Grundy SM, Waters DD, Shear C, Barter P, Fruchart JC, et al. Intensive Lipid Lowering with Atorvastatin in Patients with Stable Coronary Disease. *N Engl J Med* 2005;352:1425-35.
15. Genest J, Libby P, Gotto AM. Lipoprotein Disorders and Cardiovascular Disease. In: Saunders E, editor. *Braunwald's Heart Disease - A textbook of cardiovascular medicine*. 7th Edition ed. Philadelphia; 2005. p. 1013-1033.
16. Genest JJ, McNamara JR, Salem DN, al. e. Prevalence of risk factors in men with premature coronary heart disease. *Am J Cardiol* 1991;67:1185-1189.
17. Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, Buring JE, Willett WC, Krauss RM. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *Jama* 1988;260(13):1917-21.
18. Superko HR, Haskell WL, Krauss RM. Association of lipoprotein subclass distribution with use of selective and non-selective beta-blocker medications in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis* 1993;101:1-8.
19. Austin MA, Mykkanen L, Kuusisto J, Edwards KL, Nelson C, Haffner SM, et al. Prospective study of small LDLs as a risk factor for non-insulin dependent diabetes mellitus in elderly men and women. *Circulation* 1995;92:1770-8.
20. Krauss RM, Burke DJ. Identification of multiple subclasses of plasma low density lipoproteins in normal humans. *J Lipid Res* 1982;23:97-104.
21. Alaupovic P. Apolipoprotein composition as the basis of classifying plasma lipoproteins. Characterization of Apo-A and Apo-B-containing lipoprotein families. *Prog Lipid Res* 1991;30:105-138.
22. Vieira JLC, Gomes MEW, de Almeida AB, Moriguchi EH. Alterações do perfil das subfrações de lipoproteínas associadas à terapia de reposição hormonal. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 2001;76:177-82.
23. Kondo A, Muranaka Y, Ohta I, Notsu K, Manabe M, Kotani K, et al. Relationship between triglyceride concentrations and LDL size evaluated by malondialdehyde-modified LDL. *Clin Chem* 2001;47:893-900.
24. Sánchez-Quesada JL, Benítez S, Otal C, Franco M, Blanco-Vaca F, Ordóñez-Llanos J. Density distribution of electronegative LDL in normolipemic and hyperlipemic subjects. *Journal of Lipid Research* 2002;43:699-705.
25. Tsai MY, Yuan J, Hunninghake DB. Effect of gemfibrozil on composition of lipoproteins and distribution of LDL subspecies. *Atherosclerosis* 1992;95:35-42.
26. Caslake M, Packard C, Gaw A, al. e. Fenofibrate and LDL metabolic heterogeneity in hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb* 1993;13:702-11.
27. Bruckert E, Dejager S, Chapman MJ. Ciprofibrate therapy normalises the atherogenic low-density lipoprotein subspecies profile in combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 1993;100:91-102.
28. de Graaf J, Hendriks JC, Demacker PN. Identification of multiple dense LDL subfractions with enhanced susceptibility to in vitro oxidation among hypertriglyceridemic subjects: normalization after clofibrate treatment. *Arterioscler Thromb* 1993;13:712-719.
29. Guerin M, Bruckert E, Dolphin PJ, Turpin G, Chapman MJ. Fenofibrate reduces plasma cholesteryl ester transfer from HDL to VLDL and normalizes the atherogenic, dense LDL profile in combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:763-772.
30. Kontopoulos AG, Athyros VG, Papageorgiou AA, al e. Effects of simvastatin and ciprofibrate alone and in combination on lipid profile, plasma fibrinogen and low density lipoprotein particle structure and distribution in patients with familial combined hyperlipidaemia and coronary artery disease. *Coron Artery Dis* 1996;7:843-850.
31. Superko HR, Krauss RM. Differential effects of nicotinic acid in subjects with different LDL subclass patterns. *Atherosclerosis* 1992;95:69-76.

32. McKenney JM, McCormick LS, Schaefer EJ, Black DM, Watkins ML. Effect of niacin and atorvastatin on lipoprotein subclasses in patients with atherogenic dyslipidemia. *Am J Cardiol* 2001;88:270-4.
33. Bays HE, McGovern ME. Once-daily niacin extended release/lovastatin combination tablet has more favorable effects on lipoprotein particle size and subclass distribution than atorvastatin and simvastatin. *Prev Cardiol* 2003;6:179-88.
34. Morgan JM, Capuzzi DM, Baksh RI, Intenzo C, Carey CM, Reese D, et al. Effects of extended-release niacin on lipoprotein subclass distribution. *Am J Cardiol* 2003;91:1432-6.
35. Meyers CD, Kamanna VS, Kashyap ML. Niacin therapy in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2004;15:659-65.
36. Yuan J, Tsai MY, Hegland J, et al. Effects of fluvastatin (XU62-320), an HMG-CoA reductase inhibitor, on the distribution and composition of low density lipoprotein subspecies in humans. *Atherosclerosis* 1991;87:147-157.
37. Tilly-Kiesi M. The effect of lovastatin on low-density lipoprotein hydrated density distribution and composition in patients with intermittent claudication and primary hypercholesterolemia. *Metabolism* 1991;40:623-628.
38. de Graaf J, Demacker PN, Stalenhoef AF. The effect of simvastatin treatment on the low-density lipoprotein subfraction profile and composition in familial hypercholesterolaemia. *Neth J Med* 1993;43:254-261.
39. Cheung MC, Austin MA, Moulin P, et al. Effects of pravastatin on apolipoprotein-specific high density lipoprotein subpopulations and low density lipoprotein subclass phenotypes in patients with primary hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1993;102:107-119.
40. Gaw A, Packard C, Murray E, et al. Effects of simvastatin on apoB metabolism and LDL subfraction distribution. *Arterioscler Thromb* 1993;13:170-89.
41. Franceschini G, Cassinotti M, Vecchio G, et al. Pravastatin effectively lowers LDL cholesterol in familial combined hyperlipidemia without changing LDL subclass pattern. *Arterioscler Thromb* 1994;14:1569-1575.
42. Zambon A, Cortella A, G. S, et al. Pravastatin treatment in combined hyperlipidaemia: effect on plasma lipoprotein levels and size. *Eur J Clin Pharmacol* 1994;221-224.
43. Bredie SJ, de Bruin TW, Demacker PN, et al. Comparison of gemfibrozil vs simvastatin in familial combined hyperlipidemia and effects on apolipoprotein-B-containing lipoproteins, low-density lipoprotein subfraction profile and low-density lipoprotein oxidizability. *Am J Cardiol* 1995;75:348-353.
44. Guerin M, Dolphin PJ, Talussot C, et al. Pravastatin modulates cholesteryl ester transfer from HDL to apoB-containing lipoproteins and lipoprotein subspecies profiles in familial hypercholesterolemia. *Thromb Vasc Biol* 1995;15:1359-1368.
45. Superko HR, Krauss RM, Di Ricco C. Effect of fluvastatin on low-density lipoprotein peak particle diameter. *Am J Cardiol* 1997;80:78-81.
46. Marz W, Scharngl H, Abletshauser C, Hoffman MM, Berg A, Keul J, et al. Fluvastatin lowers atherogenic dense low-density lipoproteins in postmenopausal women with the atherogenic lipoprotein phenotype. *Circulation* 2001;103:1942-1948.
47. Winkler K, Abletshauser C, Hoffmann MM, Friedrich I, Baumstark MW, Wieland H, et al. Effect of fluvastatin slow-release on low density lipoprotein (LDL) subfractions in patients with type 2 diabetes mellitus: baseline LDL profile determines specific mode action. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2002;87:5485-5490.
48. Guerin M, Egger P, Soudant C, Le Goff W, van Tol A, Dupuis R, et al. Dose-dependent action of atorvastatin in type IIB hyperlipidemia: preferential and progressive reduction of atherogenic apoB-containing lipoprotein subclasses (VLDL-2, IDL, small dense LDL) and stimulation of cellular cholesterol efflux. *Atherosclerosis* 2002;163:287-96.

49. Moriguchi EH. Metabolismo das lipoproteínas. *Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul* 2001;2:12-18.
50. Cooper A. Hepatic uptake of chylomicron remnants. *J Lipid Res* 1997;38:2173-2192.
51. Goldberg IJ. Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J Lipid Res* 1996;37:693-707.
52. Pease RJ, Leiper JM. Regulation of hepatic apolipoprotein-B-containing lipoprotein secretion. *Curr Opin Lipidol* 1996;7:132-138.
53. Tall AR. Plasma cholesteryl ester transfer protein. *J Lipid Res* 1993;34:1255-1274.
54. Brown MS, Goldstein JA. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986;232:34-37.
55. Fielding C, Fielding P. Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J Lipid Res* 1995;36:211-28.
56. Trigatti B, Rigotti A, Krieger M. The role of high-density lipoprotein receptor SR-BI in cholesterol metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2000;11:123-32.
57. Fidge N. High-density receptors, binding proteins, and ligands. *J Lipid Res* 1999;40:187-201.
58. Tall A, Jiang X, Luo Y, Silver D. 1999 George Lyman Duff Memorial Lecture: lipid transfer proteins, HDL metabolism and atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1185-8.
59. Wade D, Owen J. Regulation of the cholesterol efflux gene, ABCA-I. *Lancet* 2001;357:161-3.
60. Tall A. Plasma high-density lipoproteins. Metabolism and relationship to atherogenesis. *J Clin Invest* 1990;86:379-84.
61. Colvin P, Moriguchi EH, Barrett H, Parks JS, Rudel LL. Production rate determines plasma concentration of large high-density lipoprotein in nonhuman primates. *J Lipid Res* 1998;39:2076-2085.
62. Turpeinen O, Karvonen M, Pekkarinen M, Mirttinen M, Elosuo R, Paavilainen E. Dietary prevention of coronary heart disease: the Finnish Mental Hospital Study. *Int J Epidemiol* 1979;8:99-118.
63. Hjermmann I, Velve Byre K, Holme I, Leren P. Effect on diet and smoking intervention on the incidence of coronary heart disease. Report from the Oslo Study Group of a randomised trial in healthy men. *Lancet* 1981;2:1303-10.
64. Lorgèril M, Salen P, Martin JL, Monjaud I, Delaye J, Mamelle N. Mediterranean Diet, Traditional risk factor, and the Rate of Cardiovascular Complications After Myocardial Infarction - Final Report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation* 1999;99:779-785.
65. Lipid Research Clinics Program. The relationship of reduction in incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering. *Jama* 1984;25:365-74.
66. Frick M, Elo O, Haapa K, Heinonen O, Heinsalmi P, Helo P, et al. Helsinki Heart Study: Primary-prevention trial with gemfibrosil in middle-aged men with dyslipidemia. Safety of treatment, changes in risk factors, and incidence of coronary heart disease. *N Engl J Med* 1987;317:1237-45.
67. LaRosa JC, He J, Vupputuri S. Effect of statins on risk of coronary disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Jama* 1999;282:2340-6.
68. Giannini SD, Santos RD, Fonseca FH, Moriguchi EH. III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 2001;77:1-48.
69. Medical Research Council/ British Heart Foundation Heart Protection Study (HPS). 2001.
70. Shepherd J, Blauw, G.J., Murphy, M.B., et al. Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomised controlled trial. *Lancet* 2002;360:1623-30.

71. Patrick JC, Pim, F., Carlos, M., et al. For the Lescol Intervention Prevention Study (LIPS) Investigators. Fluvastatin for Prevention Of Cardiac Events Following Successful First Percutaneous Coronary Intervention. *Jama* 2002;287:3215-22.
72. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002;360(9326):7-22.
73. Sever P, Dahlof B, Poulter N, Wedel H, Beevers G, Caulfield M, et al. Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial--Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2003;361:685-96.
74. Cannon C, Braunwald E, McCabe C, Rader D, Rouleau J, Belder R, et al. Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2004;350:1495-504.
75. Rifkind BM. Clinical Trials of Reducing Low-density lipoprotein Concentrations. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 1998;585-95.
76. Executive Summary of the Third Report of the Expert Panel on Detection , Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adults Treatment Panel III). *Jama* 2001;285:2486-97.
77. Austin M, King M, Vranizan K, Krauss R. Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation* 1990;82:495-506.
78. Grundy SM, Bazzarre T, Cleeman J, D'Agostino RB, Hill M, Houston-Miller N, et al. Prevention Conference V: Beyond secondary prevention: identifying the high risk patient for primary prevention. *Circulation* 2000;101:e3-e11.
79. Berneis KK, Krauss RM. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res* 2002;43:1363-1379.
80. Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, al. e. A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *Jama* 1996;276:882-888.
81. Gardner CD, Fortmann SP, Krauss RM. Association of small low density lipoprotein particles with the incidence of coronary artery disease in men and women. *Jama* 1996;276:875-881.
82. Lamarche B, Tchernof A, Moorjani S, al. e. Small, dense low density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men: prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Circulation* 1997;95:69-75.
83. St. Pierre AC, Ruel IL, Cantin B, Dagenais GR, Bernard PM, Despres JP, et al. Comparison of various electrophoretic characteristics of LDL particles and their relationship to the risk of ischemic heart disease. *Circulation* 2001;104:2295-2299.
84. Blake GJ, Otvos JD, Rifai N, Ridker PM. Low-density lipoprotein particle concentration and size as determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy as predictors of cardiovascular disease in women. *Circulation* 2002;106:1930-1937.
85. Soedamah-Muthu SS, Chang YF, Otvos J, Evans RW, Orchard TJ. Lipoprotein subclass measurements by nuclear magnetic resonance spectroscopy improve the prediction of coronary artery disease in Type 1 diabetes. A prospective report from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *Diabetologia* 2003;46:674-82.
86. Hokanson JE, Austin MA, Brunzell JD. Measurement and clinical significance of low-density lipoprotein subclasses. In: Rifai N WG, Dominiczak MH, eds., editor. *Handbook of lipoprotein Testing*. Washington, DC: AACC Press; 1997. p. 267-282.
87. Kuller L, Arnold A, Tracy R, Otvos J, Burke G, Psaty B, et al. Nuclear magnetic resonance spectroscopy of lipoproteins and risk of coronary heart disease in the cardiovascular health study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1175-80.
88. Rosenson RS, Otvos JD, Freedman DS. Relations of lipoprotein subclass levels and low-density lipoprotein size to progression of coronary artery disease in the Pravastatin Limitation of Atherosclerosis in the Coronary Arteries (PLAC-I) trial. *Am J Cardiol* 2002;90:89-94.

89. Nichols AV, Krauss RM, Musliner TA. Nondenaturing polyacrylamide gradient gel electrophoresis. *Methods Enzymol* 1986;128:417-431.
90. Otvos JD, Jeyarajah EJ, Bennet DW. Quantification of plasma lipoproteins by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin Chem* 1991;37:377-386.
91. Otvos J, Jeyarajah E, Bennett D, Krauss RM. Development of a proton nuclear magnetic resonance spectroscopic method for determining plasma lipoprotein concentrations and subspecies distributions from a single, rapid measurement. *Clin Chem* 1992;38:1632-8.
92. Witte DR, Taskinen MR, Perttunen-Nio H, Tol A, van Livingstone S, Colhoun HM. Study of agreement between LDL size as measured by nuclear magnetic resonance and gradient gel electrophoresis. *Journal of Lipid Research* 2004;45:1069-1076.
93. Lamarche B, Lernieux I, Depres JP. The small, dense LDL phenotype and the risk of coronary heart disease: epidemiology, phato-physiology and therapeutic aspects. *Diabetes Metab* 1999;25:199-211.
94. DeLalla OF, Elliott HA, Gofman JW. Ultracentrifugal Studies of high density serum lipoproteins in clinically healthy adults. *Am J Physiol* 1954;179:333-337.
95. Blanche PJ, Gong EL, Forte TM, Nichols AV. Characterization of human high-density lipoproteins by gradient gel electrophoresis. *Biochim Biophys Acta* 1981;665:408-419.
96. Packard CJ, Shepherd J. Lipoprotein Heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3542-3556.
97. Forster LF, Stewart G, Bedford D, Stewart JP, Rogers E, Shepherd J, et al. Influence of atorvastatin and simvastatine on apolipoprotein B metabolism in moderate combined hyperlipidemic subjects with low VLDL and LDL fractional clearance rates. *Atherosclerosis* 2002;164:129-145.
98. Chapman MJ, Guerin M, Bruckert E. Atherogenic, dense low-density lipoproteins. Pathophysiology and new therapeutic approaches. *Eur Heart J* 1998;19 Suppl A:A24-30.
99. Millar JS, Packard CJ. Heterogeneity of apolipoprotein B-100-containing lipoproteins: what we have learnt from kinetic studies. *Curr Opin Lipidol* 1998;9:197-202.
100. Guerin M, Lassel TS, Le Goff W, Farnier M, Chapman MJ. Action of atorvastatin in combined hyperlipidemiae: preferential reduction of cholesteryl ester transfer from HDL to VLDL1 particles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1891-97.
101. Otvos JD. Measurement of lipoprotein subclass profiles by nuclear magnetic resonance spectroscopy. In: Rifai IV WG DM, editor, editor. *Handbook of Lipoprotein testing*. Washington, DC:AACC Press; 2000. p. 609-23.
102. Freedman DS, Otvos JD, Jeyarajah EJ, Barboriak JJ, Anderson AJ, Walker JA. Relation of lipoprotein subclasses as measured by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy to coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1046-53.
103. Sacks FM, Campos H. Low-density lipoprotein size and Cardiovascular Disease: A Reappraisal. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2003;88:4525-32.
104. Otvos JD, Jeyarajah EJ, Cromwell WC. Measurement issues related to lipoprotein heterogeneity. *Am J Cardiol* 2002;90(8A):22i-29i.
105. Austin MA, Newman B, Selby JV, Edwards K, Mayer EJ, Krauss RM. Genetics of LDL subclass phenotypes in Women Twins. *Arterioscler Thromb* 1993;13:687-695.
106. Austin MA, Krauss RM. Genetic control of low-density-lipoprotein subclasses. *Lancet* 1986;2:592-5.
107. Austin MA, King MD, Vranizan KM, Newman B, Krauss RM. Inheritance of low-density lipoprotein subclass patterns: Results of complex segregation analysis. *Am J Hum Genet* 1988;43:838-846.

108. Nishina PM, Johnson JP, Nugert JK, Krauss RM. Linkage of atherogenic lipoprotein phenotype to the low density lipoprotein receptor locus on the short arm of chromosome 19. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:708-712.
109. Campos H, Genest JJ, E B, al. e. Low density lipoprotein particle size and coronary artery disease. *Arterioscler Thromb* 1992;12:187-195.
110. Coresh J, Kwiterovich POJ, Smith HH, al e. Association of plasma triglyceride concentration on LDL particle diameter, density, and chemical composition with premature coronary artery disease in men and women. *J Lipid Res* 1993;34:1687-1697.
111. Griffin BA, Freeman DJ, Tait GW, al. e. Role in plasma triglyceride in the regulation of plasma low density lipoprotein (LDL) subfractions: relative contribution of small, dense LDL to coronary heart disease risk. *Atherosclerosis* 1994;106:241-253.
112. Gray RS, Robbins DC, Wang W, al. e. Relation of LDL size to the insulin resistance syndrome and coronary heart disease in American Indians: The Strong Heart Study. *Arterioscler Thromb* 1997;17:2713-2720.
113. Steinberg D, Gotto AMJ. Preventing coronary artery disease by lowering cholesterol levels. *Jama* 1999;282:2043-50.
114. Nigon F, Lesnik P, Rouis M, Chapman MJ. Discrete subspecies of human low density lipoproteins are heterogeneous in their interaction with the cellular LDL receptor. *J Lipid Res* 1991;32:1741-1753.
115. Bjornheden T, Babyi A, Bondjers G, Wiklund O. Accumulation of lipoprotein fractions and subfractions in the arterial wall, determined in an in vitro perfusion system. *Atherosclerosis* 1996;123:43-56.
116. Hunninghake DK. HMG-CoA reductase inhibitors. *Curr Opin Lipidol* 1992;3:22-28.
117. Athyros VG, Papageorgiou AA, Mercouris BR. The GREek Atorvastatin and Coronary heart disease evaluation (GREACE) Study. *Curr Med Res Opin* 2002;18:220-28.
118. Serruys PW, de Feyter, P., Macaya, C. et al - Intervention prevention study (LIPS) Investigators. Fluvastatin for prevention of cardiac events following successful first percutaneous intervention: a randomised controlled trial. *Jama* 2002;287:3215-22.
119. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20 536 high-risk individuals: a randomised placebo controlled trial. *Lancet* 2002;360:7-22.
120. The ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group. Major outcomes in moderately hypercholesterolemic, hypertensive patients randomised with pravastatin vs usual care. *Jama* 2002;288:2998-3007.
121. Brown B, Zhao X, Sacco D, Albers J. Lipid lowering and plaque regression: new insights into prevention of plaque disruption and clinical events in coronary heart disease. *Circulation* 1993;87:1781-91.
122. Brown B, Hillger L, Zhao X, Poulin D, Albers J. Types of changes in coronary stenosis severity and their relative importance in overall progression and regression of coronary disease: observations of the FATS Trial: Familial Atherosclerosis Treatment Study. *Am N Y Acad Sci* 1995;748:407-18.
123. Vaughan C, Gotto AJ, Basson C. The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:1-10.
124. International Lipid Information Bureau. Consider and select lipid-modifying drug therapy as necessary. In: ed r, editor. *Dyslipidemia and coronary heart disease*; 2003. p. 117-29.
125. Nissen S, Nicholls S, Sipahi I, Libby P, Raichlen J, Ballantyne C, et al. Effect of Very High-Intensity Statin Therapy on Regression of Coronary Atherosclerosis. The ASTEROID Trial. *Jama* 2006;295:1556-1565.

126. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362:801-809.
127. Packard CJ. Influence of pravastatin and plasma lipids on clinical events in the West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS). *Circulation* 1998;97:1440-5.
128. Robinson JG, Smith B, Maheshwari N, Schrott H. Pleiotropic effects of statins: benefit beyond cholesterol reduction? A meta-regression analysis. *J Am Coll Cardiol* 2005;46(10):1855-62.
129. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Rader DJ, Rouleau JL, Belder R, et al. Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2004;350(15):1495-504.
130. de Denus S, Spinler S. Early statin therapy for acute coronary syndromes. *Ann Pharmacother* 2002;35:1749-58.
131. Takemoto M, Liao JK. Pleiotropic effects of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase Inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1712-9.
132. Mykkanen L, Kuusisto J, Haffner SM, Laakso M, Austin MA. LDL size and risk of coronary heart disease in elderly men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2742-8.
133. Campos H, Moye LA, Glasser SP, Stampfer MJ, Sacks FM. Low-density lipoprotein size, pravastatin treatment, and coronary events. *Jama* 2001;286:1468-74.
134. Vakkilainen J, Makimattila S, Seppala-Lindroos A, Vehkavaara S, Lahdenpera S, Groop PH, et al. Endothelial dysfunction in men with small LDL particles. *Circulation* 2000;102:716-21.
135. Austin M, Rodriguez BL, McKnight B, et al. e. Low-density lipoprotein particle size, triglycerides, and high density lipoprotein cholesterol as risk factors for coronary heart disease in older Japanese-American men. *Am J Cardiol* 2000;86:412-416.
136. Ferrannini E, Haffner SM, Mitchell BD, Stern MP. Hyperinsulinaemia: the key feature of a cardiovascular and metabolic syndrome. *Diabetologia* 1991;34:416-422.
137. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2001;24:683-689.
138. Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *Jama* 2002;288:2709-2716.
139. Kathiresa S, Otvos JD, Sullivan LM, Keyes MJ, Shafer EJ, Wilson PWF, et al. Increased small low-density lipoprotein particle number - A prominent feature of the metabolic syndrome in the Framingham Heart Study. *Circulation* 2006;113:20-29.
140. Goff DC, Jr., D'Agostino RB, Jr., Haffner SM, Otvos JD. Insulin resistance and adiposity influence lipoprotein size and subclass concentrations. Results from the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Metabolism* 2005;54:264-70.
141. Garvey WT, Kwon S, Zheng D, Shaughnessy S, Wallace P, Hutto A, et al. Effects of insulin resistance and type 2 diabetes on lipoprotein subclass particle size and concentration determined by nuclear magnetic resonance. *Diabetes* 2003;52:453-62.
142. Sniderman AD, Scantlebury T, Cianflone K. Hypertriglyceridemic hyperapob: the unappreciated atherogenic dyslipoproteinemia in type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 2001;135:447-459.
143. Sniderman AD, Cianflone K. Substrate delivery as a determinant of hepatic apo B secretion. *Arterioscler Thromb* 1993;13:629-636.
144. Lewis GF, Uffelman KD, Szeto LW, Weller B, Steiner G. Interaction between free fatty acids and insulin in the acute control of very low density lipoprotein production in humans. *JAMA* 1995;273:158-166.
145. Halle M, Berg A, Baumstark MW, Konig D, Huonker M, Keul J. Influence of mild to moderately elevated triglycerides on low density lipoprotein subfraction concentration and

composition in healthy men with low high density lipoprotein cholesterol levels. *Atherosclerosis* 1999;143:185-192.

146. Watson TD, Caslake MJ, Freeman DJ, Griffin BA, Hinnie J, Packard CJ, et al. Determinants of LDL subfraction distribution and concentrations in young normolipidemic subjects. *Arterioscler Thromb* 1994;14:902-910.

147. Manninen V, Tenkanen L, Koskinen P, et al. Joint effects of serum triglyceride and LDL-C and HDL-C concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study: implications for treatment. *Circulation* 1992;85:37-45.

148. The BIP Study Group. Secondary prevention by raising HDL cholesterol and reducing triglycerides in patients with coronary artery disease: The Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) Study. *Circulation* 2000;102:21-27.

149. Assmann G, Schulte H. Relation of high density lipoprotein cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary artery disease. (the PROCAM experience). *Am J Cardiol* 1992;70:733-737.

150. Gotto AM. Triglyceride; the forgotten risk factor. *Circulation* 1998;97:1027-28.

151. Castelli WP. Epidemiology of triglycerides: a view from Framingham. *Am J Cardiol* 1992;70:3H-9H.

152. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population - based prospective studies. *J Cardiovasc Risk* 1996;3:213-19.

153. Otvos J. Measurement of triglyceride-rich lipoproteins by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin Cardiol* 1999;22(6 Suppl):II21-7.

154. Fruchart J, Duriez P. HDL and triglycerides as therapeutic targets. *Curr Opin Lipidol* 2002;13:605-16.

155. McNamara J, Jenner J, Li Z, Wilson P, Schaefer E. Change in LDL particle size is associated with change in plasma triglyceride concentration. *Arterioscler Thromb* 1992;11:1284-90.

156. Ginsberg HN. Lipoprotein physiology. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 1998;27:503-19.

157. Johansson J, Carlson L, Landou, C., Hamsten, A. High density lipoproteins and coronary atherosclerosis. A strong inverse relation with the largest particles in confined to normotriglyceridemic patients. *Arterioscler Thromb* 1991;11:174-82.

158. Johansson J, Walldius G, Carlson L. Close correlation between high density lipoprotein and triglycerides in normotriglyceridaemia. *Journal of Internal Medicine* 1992;232:43-51.

159. Sweetnam P, Bolton C, Yarnell J, et al. Association of the HDL2 and HDL3 cholesterol subfractions with the development of ischemic heart disease in British men. The Caerphilly and Speedwell collaborative heart disease study. *Circulation* 1994;90:769-74.

160. Miller BD, Alderman EL, Haskell WL, Fair JM, Krauss RM. Predominance of dense low - density lipoprotein particles predicts angiographic benefit of therapy in the Stanford Coronary Risk Intervention Project. *Circulation* 1996;94:2146-2153.

161. Guerin M, Le Goff W, Frisdal E, Scheneider S, Milosavljevic D, Bruckert E, et al. Action of Ciprofibrate in type IIB hyperlipoproteinemia: Modulation of the Atherogenic Lipoprotein Phenotype and Stimulation of high-density lipoprotein-mediated cellular cholesterol efflux. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2003;88:3738-3746.

162. Frost RJ, Otto C, Geiss HC, Schwandt P, Parhofer KG. Effects of atorvastatin versus fenofibrate on lipoprotein profiles, low-density lipoprotein subfraction distribution, and hemorheologic parameters in type 2 diabetes mellitus with mixed hyperlipoproteinemia. *Am J Cardiol* 2001;87:44-48.

163. Miller BD, Krauss RM, Cashin-Hemphill L, Blankenhorn DH. Baseline-triglyceride levels predict angiographic benefit of colestipol plus niacin therapy in the cholesterol-lowering atherosclerosis study (CLAS). *Circulation* 1993;4(Suppl.):I-363.
164. Otvos J, Collins D, Freedman D, Shalurova I, Schaefer E, McNamara J, et al. Low-Density Lipoprotein and High-Density Lipoprotein Particle Subclasses Predict Coronary Events and Are Favorably Changed by Gemfibrozil Therapy in the Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Intervention Trial. *Circulation* 2006;113:1556-1563.
165. Campos H, B.W. W, Judge H, Sacks FM. Effect of estrogen on very low density lipoprotein and low density lipoprotein subclass metabolism in post-menopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3955-3963.
166. Dreon DM, Fernstrom HA, Williams PT, Krauss RM. A very-low fat diet is not associated with improved lipoprotein profiles in men with a predominance of large, low-density lipoproteins. *Am J Clin Nutr* 1999;69:411-418.
167. Kratz M, Gulbahce E, Von Eckardstein A, Cullen P, Cignarella A, Assmann G, et al. Dietary mono- and polyunsaturated fatty acids similarly affect LDL size in healthy men and women. *J Nutr* 2002;132:715-718.

II - ARTIGO PORTUGUÊS

**EFEITO DA FLUVASTATINA NAS SUBCLASSES DE
LIPOPROTEÍNAS EM PACIENTES DISLIPIDÊMICOS COM
DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA NORMO E
HIPERTRIGLICERIDÊMICOS**

**EFEITO DA FLUVASTATINA NAS SUBCLASSES DE LIPOPROTEÍNAS EM
PACIENTES DISLIPIDÊMICOS COM DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA
NORMO E HIPERTRIGLICERIDÊMICOS**

**FLUVASTATIN EFFECTS ON LIPOPROTEIN SUBCLASS IN DISLIPIDEMIC
PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE NORMOTRIGLYCERIDEMIC
AND HYPERTRIGLYCERIDEMIC**

Ana Paula Zamboni ¹
José Luiz Vieira ¹
Vera Lúcia Portal ²
Emílio H. Moriguchi ^{1*}

Correspondência para:

Dra. Ana Paula Zamboni, Rua São Francisco,906/305. Porto Alegre, RS
90620-070 Brasil.
Tel: +55 54 99717985; Email: ana_zamboni@terra.com.br

¹ Curso de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

² Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul

* Posição atual: Pós-Graduação Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

RESUMO

Introdução - Os estudos sobre o efeito das estatinas na estrutura das lipoproteínas trazem resultados controversos. Uma das causas dos resultados negativos pode ser o fato de que a maioria dos estudos estratifica seus participantes apenas com base nos níveis de colesterol e não nos níveis de triglicerídeos (TG), os quais refletem melhor a composição basal das lipoproteínas.

Objetivos - O presente estudo tem por objetivo avaliar o efeito da fluvastatina nas subclasses de lipoproteínas em pacientes com doença arterial coronariana (DAC) e dislipidemia, estratificados pelos níveis de TG basal abaixo ou igual ou acima de 150 mg/dL.

População e Métodos - Fluvastatina foi administrada na dose de 40 a 80mg a 19 pacientes com DAC e níveis de LDL-colesterol (LDL-C) acima de 130mg/dL, 13 com níveis de TG < 150 mg/dL (grupo TG<150) e 6 com TG \geq 150 mg/dL (grupo TG \geq 150). Ressonância nuclear magnética por emissão de prótons (RNM) foi utilizada para avaliar a concentração de lipídios e a distribuição das subclasses de lipoproteínas. A análise do efeito da fluvastatina e a comparação entre os grupos foi feita por ANOVA para medidas repetidas.

Resultados - No início do estudo, os dois grupos apresentaram níveis de colesterol total (CT) e LDL-C semelhantes, mostrando diferenças apenas nos níveis de TG e HDL-colesterol (HDL-C). Após 24 semanas de fluvastatina, os níveis de CT e LDL-C foram significativamente reduzidos em ambos os grupos. Redução significativa nos níveis de TG e aumento nos níveis de HDL foram observados apenas no grupo TG \geq 150. O colesterol das partículas de LDL

pequenas e densas (L1) foi reduzido (de 105 ± 67 para 19 ± 8 mg/dL, $p=0.002$) e o colesterol das partículas grandes de HDL (H4 correspondendo a HDL_{2a}) aumentou (de 6 ± 4 para 15 ± 5 mg/dL, $p=0.01$) apenas no grupo TG ≥ 150 mg/dL.

Conclusão - A fluvastatina pode ter impacto favorável além da redução de lipídios, restabelecendo a distribuição normal de subclasses de lipoproteínas apenas nos pacientes com TG ≥ 150 mg/dL.

ABSTRACT

Background – Studies on the effects of statins on lipoprotein structure have given controversial results. One of the causes of these negative findings might be due to the fact that the majority of those studies stratified the participants only on the basis of cholesterol levels and not on the triglyceride levels that reflect better the composition of the lipoproteins. This study evaluated the effect of fluvastatin on lipoprotein subclass distribution pattern in coronary heart disease (CHD) patients with hypercholesterolemia stratified by triglyceride levels $<$ or \geq 150mg/dL.

Methods – Fluvastatin 40 to 80mg was administered to 19 CHD patients with plasma LDL-cholesterol (LDL-C) concentration above 130mg/dL, 13 with plasma TG concentrations below and 6 equal or above 150mg/dL. Nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) of plasma was used to assess lipid concentrations and lipoprotein subclasses distribution. Two-way ANOVA was used for statistical analysis.

Results - At the start of the trial, the low TG group and high TG group presented similar total cholesterol (TC) and LDL-C levels, showing differences only in TG and HDL-C levels. After 24 weeks of fluvastatin, TC and LDL-C levels were similarly and significantly reduced in both groups. Significant reduction in TG and increase in HDL-C levels were observed only in the high TG group. Cholesterol in small and dense LDL particles (L1) reduced (from 105 ± 67 to 19 ± 8 mg/dL, $p=0.002$) and cholesterol in large HDL particles (H4 corresponding to HDL2a) increased (from 6 ± 4 to 15 ± 5 mg/dL, $p=0.01$) only in the high TG group.

Conclusion - Fluvastatin can have favorable impact beyond the lipids reduction, reestablishing the normal lipoprotein subclass distribution only for those with TG above 150mg/dL.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, está bem estabelecido que cada uma das principais classes de lipoproteínas (lipoproteína de baixa densidade – LDL, lipoproteína de alta densidade – HDL – e lipoproteína de densidade muito baixa – VLDL) é composta por uma mistura de partículas heterogêneas que diferem entre si quanto à densidade, tamanho e composição (1-3). Além disso, dentro de cada classe de lipoproteína, essas subclasses apresentam heterogeneidade em sua associação com doença arterial coronariana (DAC). Por esta razão, tem sido dada progressiva importância à influência do padrão de distribuição das subclasses de lipoproteínas no risco de DAC (4). Vários estudos indicam que as partículas pequenas e densas de LDL são altamente aterogênicas, estando associadas com risco aumentado de DAC (1, 5-11). As partículas grandes de HDL foram associadas com menor risco de DAC, sendo consideradas mais antiaterogênicas do que as partículas menores de HDL (12-14). Em pessoas com níveis de triglicérides (TG) acima de 150 mg/dL, as partículas pequenas e densas de LDL são mais prevalentes e as partículas grandes de HDL são menos prevalentes, expondo-os a um maior risco de DAC (5, 15).

Nos estudos que investigam a habilidade dos hipolipemiantes em alterar a distribuição de subclasses de lipoproteínas, observou-se que as estatinas alteram favoravelmente os níveis de colesterol total (CT), LDL-C e HDL-C, porém sua capacidade de alterar a distribuição e composição das partículas anormais de LDL e de HDL ainda é controversa (16-22). Demonstrou-se também que os fibratos e a niacina, outras classes de drogas hipolipemiantes, podem mudar o padrão de distribuição das subclasses de lipoproteínas, reduzindo as partículas

de LDL pequenas e densas (23-29). No entanto, fibratos e niacina são usados essencialmente em pacientes com hipertrigliceridemia, quase todos com predomínio de partículas pequenas e densas de LDL. Por outro lado, as estatinas são usadas primeiramente nos pacientes com hipercolesterolemia, tanto normotriglicidêmicos como hipertriglicidêmicos, uma população heterogênea com relação ao predomínio de partículas pequenas e densas ou grandes e flutuantes de LDL. É possível que este seja o ponto que impediu a demonstração da influência das estatinas no padrão de distribuição das subclasses de lipoproteínas.

O objetivo deste estudo é avaliar o efeito da fluvastatina nas subclasses de lipoproteínas em pacientes com DAC e hipercolesterolemia, comparando as diferenças dos efeitos em pacientes com níveis de TG abaixo e acima de 150 mg/dL, quando ajustado pelos níveis de LDL-C.

POPULAÇÃO E MÉTODOS

POPULAÇÃO

Os participantes foram selecionados para o estudo dentre pacientes ambulatoriais com DAC documentada através de angiografia, com idades entre 35 e 75 anos, que depois de passar por um período basal de 4 semanas com a dieta *do National Cholesterol Education Program* (NCEP) passo II, apresentassem uma concentração plasmática de LDL-C acima de 130 mg/dL. A orientação dietética foi fornecida por uma nutricionista. Os pacientes foram excluídos se apresentassem algum dos critérios a seguir: hiperlipidemia secundária; história de infarto agudo do miocárdio ou acidente vascular cerebral ocorrido dentro dos 3 meses precedentes; insuficiência cardíaca severa (NYHA

classe III ou IV); dependência de álcool; doença hepática (transaminases ou bilirrubinas 2 vezes acima do nível da normalidade); doença renal (creatinina > 1,5 mg/dL); doença gastrointestinal severa; obesidade mórbida (peso corporal > 140% do ideal); uso de medicação hipolipemiante nas últimas 12 semanas ou que tivessem dificuldade de retorno para o acompanhamento. O estudo foi realizado entre julho de 1998 e junho de 1999, no Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul, Brasil. O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de ética da instituição. Todos os pacientes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

ESTUDO

O estudo incluiu 19 participantes que foram alocados em dois grupos: um grupo com níveis de TG plasmáticos abaixo de 150 mg/dL (grupo TG<150, n=13) e, outro grupo com níveis de TG plasmáticos acima de 150 mg/dL (grupo TG≥150, n=6). Todos receberam 40 a 80mg/dia de fluvastatina sódica por 24 semanas, com uma dose inicial de 40mg que era aumentada para 80mg após 8 semanas se os níveis de LDL-C permanecerem acima de 100 mg/dL. O seguimento à dieta foi monitorado por consultas mensais com a nutricionista e por um questionário e a adesão ao tratamento foi controlada através da contagem dos comprimidos de medicamentos restantes em cada visita, com intervalos de 4 semanas.

ANÁLISES E TESTES LABORATORIAIS

As amostras de sangue foram coletadas após 12 a 14 horas de jejum, no início e no fim do período basal do estudo, e, após isso, em intervalos de 4

semanas. Imediatamente depois da coleta, o sangue era centrifugado por 15 minutos a 1600 G para separação do plasma, lacrado, congelado em -75°C e armazenado até a análise. No fim do estudo, as amostras foram embaladas em caixas contendo gelo seco e enviadas via aérea ao *Core Lipoprotein Laboratory* (prof. Lawrence Rudel) da *Wake Forest University School of Medicine*, em Winston-Salem, na Carolina do Norte, Estados Unidos. Todas as amostras chegaram ao laboratório em boas condições, isto é, congeladas, ainda com bastante gelo seco, e em menos de 24 horas após serem embaladas. Todas as medidas foram executadas de uma vez no fim do estudo.

As lipoproteínas plasmáticas e suas subclasses foram medidas em um espectrômetro de Bruker WM 250, usando um método validado pelo CDC (*Center of Disease Control*) que emprega espectroscopia por ressonância nuclear magnética por emissão de prótons (RNM) (30-33). A análise das lipoproteínas e suas subclasses com este método é baseada no princípio de que cada partícula de lipoproteína, dentro de um determinado diâmetro, emite um sinal de RNM com frequência e formas distintas, o qual é proporcional em intensidade à concentração da massa lipídica (14). Após a aquisição do espectro de RNM de 250-MHz, os dados são analisados por deconvolução do envelope do sinal do grupo metil lipídico que aparece nos espectros em $\approx 0,8$ ppm. A comparação dos dados da amostra obtidos com o espectro de referência das subclasses de lipoproteínas acaba gerando as concentrações das subclasses de lipoproteínas, sendo detectadas VLDL, LDL e HDL grandes, médias e pequenas (31, 32).

As subclasses maiores de HDL, determinadas pela RNM, são intimamente relacionadas às subfrações maiores de HDL, derivadas da eletroforese por gradiente de gel, designados HDL_{2b} e HDL_{2a} (34). As partículas de LDL pequenas e densas se referem à subclasse L1 derivada da RNM (diâmetro médio, nm 19.0) e as partículas de LDL médias e grandes referem-se à soma de L2 e de L3 (diâmetro médio, a 20.5 e a 22.0 nm, respectivamente) (30, 34).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados quantitativos são descritos por média e desvio padrão e os categóricos por contagens e percentuais. Comparações basais entre os grupos TG<150 e TG≥150, foram realizadas por teste t de Student e teste de qui-quadrado. O efeito da fluvastatina no perfil de subfrações de lipoproteínas nos dois grupos foi comparado utilizando teste de ANOVA para medidas repetidas ajustado para os níveis de LDL-C basal. O nível de significância utilizado foi definido em $\alpha=0,05$ bicaudal. Os dados foram analisados com o programa SPSS versão 11.5 (Chicago, IL).

RESULTADOS

As características basais não diferiram entre os grupos em relação à idade, sexo, peso, índice de massa corporal e níveis plasmáticos de CT e LDL-C. Conforme esperado, o grupo TG<150 em relação ao grupo TG≥150 apresentou diferenças nos níveis plasmáticos de TG (113 ± 25 vs. 213 ± 31 mg/dL, $p<0.0001$), de HDL-C (37 ± 7 vs. 30 ± 6 mg/dL, $p=0.02$), no conteúdo de colesterol de L1 (LDL pequenas e densas) (23 ± 27 vs. 105 ± 67 mg/dL,

p=0.0008) e no conteúdo de colesterol de H4 (HDL grande) (14 ± 5 vs. 6 ± 3 mg/dL, $p<0.01$). (tabela 1)

Tabela 1 – Características basais nos dois grupos.

	Grupo TG baixo (n=13)	Grupo TG alto (n=6)	P
Idade, anos \pm DP	60 \pm 10	54 \pm 9	0.23
Sexo masculino, n (%)	9 (69)	3 (50)	0.62
Peso, kg \pm DP	71.3 \pm 10.2	73.4 \pm 16.1	0.75
Índice de Massa Corporal, kg/cm ² \pm DP	26.4 \pm 3.4	27.2 \pm 3.5	0.66
Diabete melitus, n (%)	2 (15)	0 (0)	0,54
Hipertensão arterial sistêmica, n (%)	6 (46)	4(67)	0,63
Tabagismo, n (%)	2 (15)	1 (17)	1,00
Colesterol Total, mg/dL \pm DP	212 \pm 23	222 \pm 43	0.71
Triglicérides, mg/dL \pm DP	113 \pm 25	213 \pm 31	0.0001*
LDL-colesterol, mg/dL \pm DP	148 \pm 23	156 \pm 48	0.79
HDL-colesterol, mg/dL \pm DP	37 \pm 7	30 \pm 6	0.02*
L1 (LDL pequenas e densas), mg/dL \pm DP	23 \pm 27	105 \pm 67	0.0008*
H4 (HDL grandes), mg/dL \pm DP	14 \pm 5	6 \pm 3	0.01*

Grupo TG baixo – pacientes com triglicérides basais < 150 mg/dL; Grupo TG alto – pacientes com triglicérides basais \geq 150 mg/dL; DP-desvio padrão; * $p< 0,05$.

Após 24 semanas de Fluvastatina, os níveis plasmáticos de CT modificaram de 212 ± 22 para 180 ± 17 mg/dL ($p=0.003$) vs. 222 ± 43 para 167 ± 28 mg/dL ($p=0.0007$) e os de LDL-C de 148 ± 23 para 116 ± 18 mg/dL ($p = 0.0006$) vs. 156 ± 48 para 106 ± 28 mg/dL ($p = 0.0004$), respectivamente, nos grupos com TG<150 mg/dL vs. TG \geq 150mg/dL. Apenas o grupo com TG \geq 150mg/dL apresentou alterações estatisticamente significativas nos níveis de TG (de 213 ± 31 para 143 ± 27 mg/dL, $p=0.01$) e nos níveis de HDL-C (de 30 ± 6 para 37 ± 9 mg/dL, $p=0.04$). Não houve mudanças significativas nos níveis de TG (de 113 ± 25 para 119 ± 42 mg/dL, $p=0.97$) e HDL-C (de 37 ± 7 para 40 ± 8 mg/dL, $p=0.39$) no grupo com TG<150 mg/dL. (tabela 2)

Tabela 2- Níveis de lipídeos em ambos os grupos antes e após o tratamento.

Níveis Plasmáticos (mg/dL ±DP)	Grupo com TG<150 (n=13)			Grupo com TG≥150 (n=6)		
	Semana 0	Semana 24	p	Semana 0	Semana 24	P
Colesterol Total	212 ±22	180 ±17	0,003*	222 ±43	167±28	0,0007**
LDL-colesterol	148 ±23	116 ±18	0,0006*	156 ±48	106 ±28	0,0004*
HDL-colesterol	37 ±7	40 ±8	0,39	30 ±6	37 ±9	0,04*
Triglicerídeos	113 ±25	119 ±42	0,97	213 ±31	143 ±27	0,01*

Grupo TG<150– pacientes com triglicerídeos basais <150 mg/dL; Grupo TG≥150 – pacientes com triglicerídeos basais ≥150 mg/dL; Semana 0 – antes do tratamento com fluvastatina; Semana 24 – depois do tratamento com fluvastatina por 24 semanas; DP-desvio padrão; * - p< 0,05 para a comparação entre o Δ dos dois grupos.

No que se refere à distribuição das subclasses, o conteúdo de colesterol das partículas pequenas e densas de LDL (L1) foi reduzido de 105 ± 67 para 19 ± 8 mg/dL (p=0.002) e o das partículas grandes de HDL (H4 correspondendo a HDL_{2a}) foi aumentado de 6 ± 4 para 15 ± 5 mg/dL (p=0.01) apenas no grupo com TG≥150. Não houve diferenças estatisticamente significativas no grupo com TG<150 com relação ao conteúdo de colesterol das partículas pequenas e densas de LDL e das partículas grandes de HDL (de 23 ± 28 para 25 ± 22 mg/dL, p=0.99 e de 14 ±5 para 19 ± 9 mg/dL, p=0.07, respectivamente). (tabela 3)

Tabela 3 – LDL pequenas e densas e HDL grandes em ambos os grupos ante e após o tratamento.

Níveis Plasmáticos (mg/dL ±DP)	Grupo com TG<150 (n=13)			Grupo com TG≥150 (n=6)		
	Semana 0	Semana 24	p	Semana 0	Semana 24	P
LDL pequenas e densas	23 ±28	25 ±22	0,99	105 ±67	19 ±8	0,002**
HDL grandes	14 ±5	19 ±9	0,07	6 ±4	15 ±5	0,01*

Grupo TG<150– pacientes com triglicerídeos basais <150 mg/dL; Grupo TG≥150 – pacientes com triglicerídeos basais ≥150 mg/dL; Semana 0 – antes do tratamento com fluvastatina; Semana 24 – depois do tratamento com fluvastatina por 24 semanas; DP-desvio padrão; * - p< 0,05 para a comparação entre o Δ dos dois grupos.

DISCUSSÃO

A administração de Fluvastatina por 24 semanas tem diferente impacto nas subclasses de lipoproteínas em pacientes com DAC com níveis de TG acima ou abaixo de 150 mg/dL. Houve uma redução significativa nas partículas pequenas e densas de LDL (L1) apenas no grupo com TG \geq 150 mg/dL. Esta grande redução do conteúdo de colesterol das partículas de LDL pequenas e densas (de 105 ± 67 para 19 ± 8 mg/dL) é digna de nota: o tratamento com fluvastatina levou estes para o mesmo nível do grupo com TG $<$ 150 mg/dL. Por outro lado, partículas de HDL grandes (H4) aumentaram significativamente apenas no grupo com TG \geq 150 mg/dL. Este aumento significativo do conteúdo de colesterol das partículas grandes, mais antiaterogênicas de HDL (de 6 ± 4 para 15 ± 5 mg/dL) tem também tendência similar: o tratamento com fluvastatina leva estes níveis para os mesmos níveis do grupo com TG $<$ 150 mg/dL. Os pacientes com TG $<$ 150 mg/dL, por já apresentarem uma distribuição menos aterogênica de subclasses de lipoproteínas, não poderiam apresentar melhora. Ao contrário, nos pacientes com TG \geq 150 mg/dL, com um perfil de subclasses mais aterogênico, com mais partículas de LDL pequenas e densas, aterogênicas, associadas com as partículas de HDL pequenas, menos antiaterogênicas, foi observado mudanças significativas, com reduções das LDL pequenas e densas (L1) e aumento das HDL grandes (H4/HDL_{2a}) que atingiram níveis semelhantes aos do grupo com TG $<$ 150 mg/dL.

A facilidade em provar o efeito dos fibratos e niacina no perfil das subclasses de lipoproteínas deveu-se provavelmente ao fato destas drogas serem usadas apenas em pacientes com um padrão aterogênico, associado com níveis elevados de TG (5). O tratamento de pacientes com hiperlipoproteinemia

IIB (elevação concomitante de LDL-C e triglicerídeos plasmáticos) (35) com fibratos resulta em melhora quantitativa e qualitativa do perfil das partículas aterogênicas pequenas e densas de LDL (36). Fibratos, fenofibrato e gemfibrozil diminuíram a concentração de LDL pequenas e grandes em pacientes com combinação de hiperlipidemia ou dislipidemia e diabetes tipo 2 (37, 38). O *Helsinki Heart Trial* (39) indicou que o maior benefício da dieta mais gemfibrozil nos eventos clínicos foi restrito a 10% dos sujeitos com triglicerídeos maiores que 204 mg/dl e razão LDL/HDL-C maior que 5. Um estudo publicado recentemente demonstrou através de RNM que, em pacientes com níveis de HDL-C baixos, o uso do gemfibrozil aumentou o tamanho e diminuiu o número das partículas de LDL enquanto que houve aumento do número de partículas totais de HDL e das subclasses menores. A concentração destas partículas, com o uso do gemfibrozil, foi um preditor significativo e independente de risco para novos eventos cardiovasculares. Este estudo ajudou a demonstrar o benefício desta terapia em pacientes com HDL-C baixo (40).

A população que faz uso de estatinas é heterogênea, formada principalmente por pacientes com hipercolesterolemia, tanto normotrigliceridêmicos como hipertrigliceridêmicos. Provavelmente, como apenas aqueles pacientes com um padrão de subclasses de lipoproteínas basal aterogênico apresentam melhor resposta ao tratamento no tocante ao perfil das subclasses, talvez este efeito benéfico tenha se diluído quando avaliado em conjunto com os pacientes que já apresentavam um perfil menos aterogênico.

Os efeitos dos inibidores da HMG-CoA redutase nas subfrações de LDL tem sido estudado por eletroforese por gradiente de gel, ultracentrifugação e RNM (16, 18-22, 41-46). Vários estudos não demonstraram aumento no

diâmetro das LDL (16, 18, 20, 44), alguns mostraram redução da concentração de LDL pequenas e densas (42) enquanto outros não (18, 41, 43, 45). A respeito da fluvastatina, dois estudos mostraram resultados negativos em relação à melhora do perfil de distribuição de subclasses de LDL (20, 41), um estudo com mulheres pós-menopáusicas mostrou que as subclasses de LDL ficaram menos aterogênicas em pacientes com risco aumentado para DAC e perfil basal aterogênico (46) outro, realizado em pacientes com diabetes tipo 2, mostrou redução mais pronunciada das partículas de LDL pequenas e densas apenas nos pacientes com perfil mais aterogênico, com predomínio dessas partículas (21). Dois estudos também mostraram que as estatinas reduziram as partículas pequenas e densas de LDL em pacientes não diabéticos que tenham predomínio deste subtipo de LDL, e em pacientes com hiperlipidemia familiar combinada (22). Deste modo, permanece a controvérsia sobre o potencial das estatinas em reduzir ou não as partículas pequenas e densas de LDL, mas há evidências sugerindo que em pacientes padrão B ocorra a redução dessas partículas.

Zambon e colaboradores (47) evidenciaram que o aumento na concentração de LDL grandes e flutuantes e diminuição na atividade da lipase hepática correlacionam-se com melhora na estenose coronariana após tratamento com lovastatina e colestipol ou niacina e colestipol. O *CLAS (Cholesterol Lowering Atherosclerosis Study)* revelou que o benefício da intervenção com dieta, colestipol e ácido nicotínico na progressão de DAC foi restrita ao grupo com TG >190mg/dL (48).

O SCRIP (*Stanford Coronary Risk Intervention Project*), um estudo de intervenção com múltiplos fatores de risco em pacientes com DAC documentada

por angiografia, no qual os regimes de tratamento usados incluíram resinas carreadoras de ácidos biliares e ácido nicotínico evidenciou que apesar dos níveis semelhantes de LDL-C no início e redução similar com a terapia, apenas os portadores de LDL pequenas e densas demonstraram redução na progressão angiográfica comparado com o grupo controle (49).

Como evidenciado na literatura, o efeito das estatinas no perfil das subclasses de lipoproteínas ainda é incerto, com alguns estudos demonstrando redução no LDL-C sem melhora na composição ou distribuição anormal de LDL e outros estudos demonstrando alterações benéficas nas subclasses de lipoproteínas, permanecendo a controvérsia sobre o potencial das estatinas em melhorar ou não o perfil de distribuição de subclasses de lipoproteínas.

Nosso estudo tem limitações. Por exemplo, o número de pacientes é pequeno, com apenas seis pacientes no grupo com TG elevados e foram avaliados apenas pacientes com DAC, que provavelmente têm níveis basais de TG mais elevados do que a média da população.

Dessa forma, os dados do presente estudo mostraram que nos pacientes com TG \geq 150mg/dL, sabidamente associados a uma distribuição de subclasses de lipoproteínas mais aterogênica, a fluvastatina pode ter impacto favorável além da redução de lipídios, restabelecendo a distribuição normal de subclasses de lipoproteínas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, Buring JE, Willett WC, Krauss RM. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *Jama* 1988;260(13):1917-21.
2. Austin MA, Mykkanen L, Kuusisto J, Edwards KL, Nelson C, Haffner SM, et al. Prospective study of small LDLs as a risk factor for non-insulin dependent diabetes mellitus in elderly men and women. *Circulation* 1995;92:1770-8.
3. Superko HR, Haskell WL, Krauss RM. Association of lipoprotein subclass distribution with use of selective and non-selective beta-blocker medications in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis* 1993;101:1-8.
4. Vieira JLC, Gomes MEW, de Almeida AB, Moriguchi EH. Alterações do perfil das subfrações de lipoproteínas associadas à terapia de reposição hormonal. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 2001;76:177-82.
5. Austin M, King M, Vranizan K, Krauss R. Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation* 1990;82:495-506.
6. Krauss RM, Blanche, P.J. Detection and quantification of LDL subfractions. *Curr Opin Lipidol* 1992;3:377-83.
7. Austin M, Hokanson, J. Brunzell, J. Characterization of low-density lipoprotein subclasses: methodological approaches and clinical relevance. *Curr Opin Lipidol* 1994;5:395-403.
8. Lamarche B, Tchernof A, Moorjani S, al. e. Small, dense low density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men: prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Circulation* 1997;95:69-75.
9. St. Pierre AC, Ruel IL, Cantin B, Dagenais GR, Bernard PM, Despres JP, et al. Comparison of various electrophoretic characteristics of LDL particles and their relationship to the risk of ischemic heart disease. *Circulation* 2001;104:2295-2299.
10. Blake GJ, Otvos JD, Rifai N, Ridker PM. Low-density lipoprotein particle concentration and size as determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy as predictors of cardiovascular disease in women. *Circulation* 2002;106:1930-1937.
11. Rosenson RS, Otvos JD, Freedman DS. Relations of lipoprotein subclass levels and low-density lipoprotein size to progression of coronary artery disease in the Pravastatin Limitation of Atherosclerosis in the Coronary Arteries (PLAC-I) trial. *Am J Cardiol* 2002;90:89-94.
12. Skinner E. High-density lipoprotein subclasses. *Curr Opin Lipidol* 1994;1994:241-7.
13. Tornvall P, Karpe, F., Proudler, A., et al. High-density lipoprotein: relations to metabolic parameters and severity of coronary artery disease. *Metabolism* 1996;45:1375-82.
14. Freedman DS, Otvos JD, Jeyarajah EJ, Barboriak JJ, Anderson AJ, Walker JA. Relation of lipoprotein subclasses as measured by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy to coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1046-53.
15. Kondo A, Muranaka Y, Ohta I, Notsu K, Manabe M, Kotani K, et al. Relationship between triglyceride concentrations and LDL size evaluated by malondialdehyde-modified LDL. *Clin Chem* 2001;47:893-900.
16. Cheung MC, Austin MA, Moulin P, al e. Effects of pravastatin on apolipoprotein-specific high density lipoprotein subpopulations and low density lipoprotein subclass phenotypes in patients with primary hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1993;102:107-119.
17. Gaw A, Packard C, Murray E, al. e. Effects of simvastatin on apoB metabolism and LDL subfraction distribution. *Arterioscler Thromb* 1993;13:170-89.
18. Franceschini G, Cassinotti M, Vecchio G, al e. Pravastatin effectively lowers LDL cholesterol in familial combined hyperlipidemia without changing LDL subclass pattern. *Arterioscler Thromb* 1994;14:1569-1575.

19. Bredie SJ, de Bruin TW, Demacker PN, et al. Comparison of gemfibrozil vs simvastatin in familial combined hyperlipidemia and effects on apolipoprotein-B-containing lipoproteins, low-density lipoprotein subfraction profile and low-density lipoprotein oxidizability. *Am J Cardiol* 1995;75:348-353.
20. Superko HR, Krauss RM, Di Ricco C. Effect of fluvastatin on low-density lipoprotein peak particle diameter. *Am J Cardiol* 1997;80:78-81.
21. Winkler K, Abletshauser C, Hoffmann MM, Friedrich I, Baumstark MW, Wieland H, et al. Effect of fluvastatin slow-release on low density lipoprotein (LDL) subfractions in patients with type 2 diabetes mellitus: baseline LDL profile determines specific mode action. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2002;87:5485-5490.
22. Guerin M, Egger P, Soudant C, Le Goff W, van Tol A, Dupuis R, et al. Dose-dependent action of atorvastatin in type IIB hyperlipidemia: preferential and progressive reduction of atherogenic apoB-containing lipoprotein subclasses (VLDL-2, IDL, small dense LDL) and stimulation of cellular cholesterol efflux. *Atherosclerosis* 2002;163:287-96.
23. Caslake M, Packard C, Gaw A, et al. Fenofibrate and LDL metabolic heterogeneity in hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb* 1993;13:702-11.
24. Bruckert E, Dejager S, Chapman MJ. Ciprofibrate therapy normalises the atherogenic low-density lipoprotein subspecies profile in combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 1993;100:91-102.
25. McKenney JM, McCormick LS, Schaefer EJ, Black DM, Watkins ML. Effect of niacin and atorvastatin on lipoprotein subclasses in patients with atherogenic dyslipidemia. *Am J Cardiol* 2001;88:270-4.
26. Bays HE, McGovern ME. Once-daily niacin extended release/lovastatin combination tablet has more favorable effects on lipoprotein particle size and subclass distribution than atorvastatin and simvastatin. *Prev Cardiol* 2003;6:179-88.
27. Morgan JM, Capuzzi DM, Baksh RI, Intenzo C, Carey CM, Reese D, et al. Effects of extended-release niacin on lipoprotein subclass distribution. *Am J Cardiol* 2003;91:1432-6.
28. Meyers CD, Kamanna VS, Kashyap ML. Niacin therapy in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2004;15:659-65.
29. Kastelein JJ. Modifying plasma low-density lipoprotein and high-density lipoprotein cholesterol: what combinations are available in the future? *Am J Cardiol* 2005;96:20K-27K; discussion 34K-35K.
30. Otvos J, Jevarajah E, Bennett D, Krauss RM. Development of a proton nuclear magnetic resonance spectroscopic method for determining plasma lipoprotein concentrations and subspecies distributions from a single, rapid measurement. *Clin Chem* 1992;38:1632-8.
31. Otvos JD, Bennett D. A spectroscopic approach to lipoprotein subclass analysis. *J Clin Ligand Assay* 1996;19:184-9.
32. Otvos J. Measurement of triglyceride-rich lipoproteins by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin Cardiol* 1999;22(6 Suppl):II21-7.
33. Otvos JD. Measurement of lipoprotein subclass profiles by nuclear magnetic resonance spectroscopy. In: Rifai IV, WG DM, editor, editor. *Handbook of Lipoprotein testing*. Washington, DC: AACC Press; 2000. p. 609-23.
34. Yu HH, Ginsburg GS, O'Toole ML, Otvos JD, Douglas PS, Rifai N. Acute changes in serum lipids and lipoprotein subclasses in triathletes as assessed by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19(8):1945-9.
35. Arad Y, Ramakrishnan R, Ginsberg HN. Lovastatin therapy reduces low-density lipoprotein apo B levels in subjects with combined hyperlipidemia by reducing the production of apo B-containing lipoproteins: implications for the pathophysiology of apo B production. *J Lipid Res* 1990;31:567-582.
36. Guerin M, Le Goff W, Frisdal E, Scheneider S, Milosavljevic D, Bruckert E, et al. Action of Ciprofibrate in type IIB hyperlipoproteinemia: Modulation of the Atherogenic Lipoprotein Phenotype and Stimulation of high-density lipoprotein-mediated cellular cholesterol efflux. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2003;88:3738-3746.
37. Guerin M, Bruckert E, Dolphin PJ, Turpin G, Chapman MJ. Fenofibrate reduces plasma cholesteryl ester transfer from HDL to VLDL and normalizes the atherogenic, dense LDL profile in combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:763-772.

38. Frost RJ, Otto C, Geiss HC, Schwandt P, Parhofer KG. Effects of atorvastatin versus fenofibrate on lipoprotein profiles, low-density lipoprotein subfraction distribution, and hemorheologic parameters in type 2 diabetes mellitus with mixed hyperlipoproteinemia. *Am J Cardiol* 2001;87:44-48.
39. Manninen V, Tenkanen L, Koskinen P, et al. Joint effects of serum triglyceride and LDL-C and HDL-C concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study: implications for treatment. *Circulation* 1992;85:37-45.
40. Otvos J, Collins D, Freedman D, Shalaurova I, Schaefer E, McNamara J, et al. Low-Density Lipoprotein and High-Density Lipoprotein Particle Subclasses Predict Coronary Events and Are Favorably Changed by Gemfibrozil Therapy in the Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Intervention Trial. *Circulation* 2006;113:1556-1563.
41. Yuan J, Tsai MY, Hegland J, et al. Effects of fluvastatin (XU62-320), an HMG-CoA reductase inhibitor, on the distribution and composition of low density lipoprotein subspecies in humans. *Atherosclerosis* 1991;87:147-157.
42. Tilly-Kiesi M. The effect of lovastatin on low-density lipoprotein hydrated density distribution and composition in patients with intermittent claudication and primary hypercholesterolemia. *Metabolism* 1991;40:623-628.
43. de Graaf J, Demacker PN, Stalenhoef AF. The effect of simvastatin treatment on the low-density lipoprotein subfraction profile and composition in familial hypercholesterolaemia. *Neth J Med* 1993;43:254-261.
44. Zambon A, Cortella A, G. S, et al. Pravastatin treatment in combined hyperlipidaemia: effect on plasma lipoprotein levels and size. *Eur J Clin Pharmacol* 1994;221-224.
45. Guerin M, Dolphin PJ, Talussot C, et al. Pravastatin modulates cholesteryl ester transfer from HDL to apoB-containing lipoproteins and lipoprotein subspecies profiles in familial hypercholesterolemia. *Thromb Vasc Biol* 1995;15:1359-1368.
46. Marz W, Scharngl H, Abletshauser C, Hoffman MM, Berg A, Keul J, et al. Fluvastatin lowers atherogenic dense low-density lipoproteins in postmenopausal women with the atherogenic lipoprotein phenotype. *Circulation* 2001;103:1942-1948.
47. Zambon A, Hokanson, J.E., Brown, B.G., Brunzell, J.D. Evidence for a new pathophysiological mechanism for coronary artery disease regression: hepatic-lipase mediated changes in LDL density. *Circulation* 1999;99:1959-1964.
48. Miller BD, Krauss RM, Cashin-Hemphill L, Blankenhorn DH. Baseline-triglyceride levels predict angiographic benefit of colestipol plus niacin therapy in the cholesterol-lowering atherosclerosis study (CLAS). *Circulation* 1993;4(Suppl.):I-363.
49. Miller BD, Alderman EL, Haskell WL, Fair JM, Krauss RM. Predominance of dense low-density lipoprotein particles predicts angiographic benefit of therapy in the Stanford Coronary Risk Intervention Project. *Circulation* 1996;94:2146-2153.