

Texto Complementar**A RELEVÂNCIA DA DOSAGEM DE LIPÍDEOS NO SORO**

Elaborador **Adagmar Andriolo**, Médico Patologista Clínico, Professor Livre Docente de Patologia Clínica do Departamento de Medicina - EPM / UNIFESP.

Há vários anos, as dosagens de alguns lipídeos no soro, como colesterol total, suas frações e triglicérides, são os exames de maior frequência realizados pelos serviços de bioquímica dos laboratórios clínicos em geral. Uma das razões para esta elevada demanda é, sem dúvidas, a estreita correlação destes parâmetros com o desenvolvimento da doença aterosclerótica, amplamente demonstrada por inúmeros trabalhos científicos, desde o início da década de 1950.

A inclusão de novos elementos, como os biomarcadores de processos inflamatórios, como citocinas, interleucinas e proteína C reativa, e de dislipidemias, como prostaglandinas e apolipoproteínas, acrescentou recursos laboratoriais disponíveis para a caracterização daquela doença, mas não substituiu a prática da dosagem dos lipídeos. Ao longo destes anos, ganhos metodológicos significativos foram obtidos, com a introdução de reações enzimáticas, muito mais sensíveis e específicas, possibilitando a redução do volume de amostra necessária e a automação das dosagens.

Dessa forma, continua sendo importante que os laboratórios clínicos realizem estas dosagens conforme procedimentos validados e sob rigorosos controles de qualidade, internos e externos.

Devido à alta variabilidade biológica destas substâncias, uma atenção especial deve ser dada, também, aos aspectos pré-analíticos, incluindo tempo de jejum, eventuais modificações da dieta, uso de medicamentos e ingestão de álcool.

Lipoproteínas

Os lipídeos circulam na corrente sanguínea, ligados a proteínas específicas formando complexos denominados lipoproteínas. O conteúdo de proteínas e de lipídeos nestes complexos faz com que eles assumam características de flutuação em gradientes de densidade específicos, as quais são utilizadas para sua identificação e classificação. Da mesma forma, possuem mobilidade eletroforética próprias, possibilitando que as lipoproteínas sejam separadas por eletroforese. A expressão de determinantes antigênicos específicos nas proteínas permite que métodos imunológicos sejam utilizados para sua caracterização e quantificação.

As lipoproteínas são classificadas em Quilomícrons, Lipoproteína de muito baixa densidade, Lipoproteína de baixa densidade, Lipoproteína de alta densidade. Ainda que tenhamos estes nomes em português, a prática consagra o uso de siglas inglesas. Por isso, vamos encontrar Quilomícrons, VLDL-colesterol (very low density lipoprotein), LDL-colesterol (low density lipoprotein) e HDL-colesterol (high density lipoprotein).

Os Quilomícrons são sintetizados nas células do intestino e transportam colesterol e triglicérides provenientes da dieta para o fígado e tecidos periféricos. São as maiores partículas lipoprotéicas presentes no sangue, com teor protéico relativamente baixo. A principal apoproteína presente é a B-48. O fígado depura os quilomícrons remanescentes da circulação, transferindo alguns dos componentes lipídicos para outra lipoproteína, a VLDL. A dosagem de Quilomícrons, em geral, não acrescenta informações relevantes na maioria dos casos, não sendo, portanto, realizada rotineiramente pelos laboratórios clínicos.

A Lipoproteína de muito baixa densidade é sintetizada no fígado e transporta triglicérides e, em menor intensidade, colesterol para as células adiposas, onde são estocados, ou para tecidos musculares, onde participam do metabolismo celular. A apoproteína predominante neste complexo é a B-100. Tanto os quilomícrons quanto as VLDL-colesterol sofrem a ação de uma enzima presente no endotélio, denominada lipase lipoprotéica, a qual promove hidrólise dos triglicérides, gerando ácidos graxos que são captados pelas células. Para atuar, esta enzima requer a presença de insulina e da apolipoproteína C-II e é fortemente inibida pelos ácidos graxos, o que funciona como um mecanismo de retro alimentação negativo. Esta lipoproteína também não é dosada rotineiramente pelos laboratórios clínicos, sendo sua concentração estimada, considerando-se que, em condições normais, equivale a um quinto da concentração dos triglicérides quando este é expresso em miligramas por decilitro.

A Lipoproteína de baixa densidade também é de síntese hepática e se constitui no principal meio de transporte do colesterol do fígado para a periferia do organismo, onde é internalizado nas células que o utilizarão como matéria-prima de produtos específicos ou para incorporá-lo à própria estrutura celular. Como na VLDL, a apolipoproteína mais importante desta fração é a apo B-100.

A maioria dos laboratórios clínicos faz a avaliação dos níveis de LDL-colesterol a partir da aplicação de uma fórmula descrita por Friedewald, que correlaciona a quantidade de colesterol das diferentes partículas, obedecendo a seguinte relação:

$$\text{LDL-colesterol} = \text{Colesterol total} - (\text{HDL-colesterol} + \text{VLDL-colesterol})$$

O colesterol total, o HDL-colesterol e os triglicérides são dosados por métodos enzimáticos diretos. O VLDL-colesterol é estimado a partir da concentração de triglicérides, considerando a relação $\text{VLDL-colesterol} = \text{triglicérides} \times 0,20$, quando os resultados são expressos em mg/dL. Essa relação só atende aos propósitos clínicos quando os triglicérides estão abaixo de 400mg/dL.

Alguns laboratórios clínicos realizam a dosagem direta do LDL-colesterol, por metodologia bastante confiável. Há que se notar, porém, que os resultados da dosagem não possuem boa correlação com os obtidos pela fórmula de Friedewald, uma vez que estes últimos são mais dependentes da concentração dos triglicérides.

A Lipoproteína de alta densidade transporta, principalmente, o colesterol da periferia para o fígado. No fígado, o colesterol é incorporado à nova lipoproteína ou eliminado para a luz intestinal. O HDL-colesterol é sintetizado no fígado e no intestino, possuindo, proporcionalmente, o maior conteúdo de proteínas, cujo teor chega a ser mais de 50% da sua massa. Existe correlação inversa entre os níveis séricos de HDL-colesterol e a doença arterial coronariana.

A Lipoproteína (a), cuja sigla é Lp (a) é composta por uma lipoproteína e um derivado do sistema de coagulação. O componente lipoprotéico contém apoproteína B-100 com propriedades equivalentes às da LDL-colesterol e o componente derivado da coagulação é uma glicoproteína chamada apoproteína-a (apo-a), com seqüência de aminoácidos e configuração espacial homólogas às do plasminogênio.

O nível plasmático da Lp (a) não depende de idade, gênero ou hábitos alimentares. Os exercícios físicos aeróbios tendem a diminuir a concentração em até 25%. Esta lipoproteína pode estar elevada em várias doenças, como aterosclerose, diabetes mellitus, insuficiência renal e síndrome nefrótica. As mulheres na menopausa também podem apresentar níveis mais elevados. Adicionalmente, a Lp (a) tem comportamento de proteína de fase aguda, elevando-se significativamente em resposta a processos infecciosos, inflamatórios ou traumáticos.

Apolipoproteínas

As apolipoproteínas, especialmente, A-1 e B-100 se constituem nas proteínas funcionais e estruturais mais relevantes presentes no HDL-colesterol e na LDL-colesterol, respectivamente. A apoproteína A-1 ativa a lecitina-acil colesterol transferase, uma enzima que atua sobre o HDL-colesterol e promove a esterificação do colesterol. A apoproteína B-100 possui ação reguladora tanto na síntese quanto na eliminação do colesterol.

Lípídeos

O colesterol presente no intestino provém de três diferentes fontes: dieta, secreções biliar e pancreática e das células da mucosa intestinal. Cada uma destas fontes contribui com quantidade semelhante. Da dieta, são fontes, principalmente, produtos de origem animal, como carne e ovos. Para que ocorra a absorção, o colesterol deve ser desesterificado e solubilizado, formando micelas. A absorção ocorre no intestino delgado.

Quando o colesterol é internalizado nas células do intestino, forma-se um complexo lipoprotéico denominado quilomícron, constituído por colesterol, triglicérides, fosfolípidos e apoproteínas específicas, principalmente, a apoproteína B-48.

Dos enterócitos, a maior parte dos quilomícrons passa para os vasos linfáticos, ducto torácico e se mistura com o sangue nas veias cava ou jugular interna. Além da absorção, o organismo sintetiza colesterol a partir de moléculas mais simples. O fígado e o próprio intestino são os principais órgãos responsáveis por esta síntese.

A via de eliminação preferencial do colesterol residual é o próprio fígado, seja de forma não modificada, seja esterificado, na forma de ácidos biliares.

Considerando risco de desenvolver doença aterosclerótica igual a 1 para o valor de colesterol total de 200mg/dL, observa-se risco 0,7 para colesterol de 150mg/dL; 2 para colesterol de 250mg/dL e 4 para colesterol de 300mg/dL, evidenciando que a correlação é positiva, mas não linear, havendo uma aceleração do risco para valores mais elevados.

O envolvimento dos triglicérides no processo aterosclerótico não está totalmente esclarecida, mas é possível que tenha uma participação indireta, interferindo no transporte reverso do colesterol esterificado deslocado da lipoproteína HDL para partículas mais ricas em triglicérides, mantendo-se por mais tempo em circulação.

Para a dosagem de triglicérides, alguns cuidados pré-analíticos devem ser tomados, como a manutenção dos hábitos alimentares, a não-ingestão de bebidas alcoólicas nos três dias que antecedem a coleta e jejum de 12 a 14 horas para a coleta de sangue.

Índices de risco

A partir dos parâmetros colesterol total, HDL-colesterol e LDL-colesterol, podem ser calculados os índices de Castelli I e II, assim definidos:

- Risco I = colesterol total/HDL-colesterol

- Risco II = LDL-colesterol/HDL-colesterol

O índice de Castelli I tem como limite superior de referência, para homens o valor de 5,1 e, para mulheres, 4,9 e o índice de Castelli

II, os limites são 3,3 e 2,9, para homens e mulheres, respectivamente.

Metodologias

A ultracentrifugação é o método de referência para a separação das diferentes lipoproteínas, sendo sua classificação derivada neste método. Ela se baseia na propriedade de flutuação das partículas em relação às suas densidades de equilíbrio em campo gravitacional intenso. Por ultracentrifugação é possível a separação de todas as lipoproteínas: LDL, IDL, Lp(a), HDL, VLDL e Quilomícrons. O método, apesar de todas estas virtudes, não é adequado à rotina laboratorial diária porque é muito caro, exige recursos técnicos dispendiosos e também por ser muito demorado. A recuperação deste método é da ordem de 96%.

A eletroforese se baseia na propriedade das proteínas se tornarem carregadas negativamente quando colocadas em meio com pH superior ao seu ponto isoelétrico, dentro de um campo elétrico. Além da carga das proteínas, o tamanho da partícula interfere na migração. As lipoproteínas HDL, LDL, VLDL e quilomícrons podem ser separados eletroforéticamente em fitas de acetato de celulose e gel agarose, visando sua análise qualitativa e semi-quantitativa.

As técnicas eletroforéticas possuem baixas precisão e exatidão, principalmente quando os níveis de HDL são inferiores a 45mg/dL, mesmo quando se usa a fita de agarose que apresenta melhores resultados.

Os métodos enzimáticos colorimétricos são os mais utilizados atualmente para a determinação do colesterol total, do HDL-colesterol e dos triglicérides. Constituem-se nos métodos de escolha por apresentarem muito boas sensibilidade e especificidade, simplicidade operacional, baixo custo e possibilidade de automação. Os principais interferentes são a hiperbilirrubinemia, o ácido ascórbico e a hemoglobina.

A precipitação de lipoproteínas, com posterior dosagem enzimática, é um dos métodos de determinação do HDL-colesterol que foram utilizados nos laboratórios clínicos antes da introdução dos métodos enzimáticos diretos. Atualmente, estes métodos devem ser abandonados.

Os métodos de turbidimetria e nefelometria são amplamente utilizados para a dosagem das apoproteínas.

Não há diferença significativa nos níveis de lipídeos quando dosados no soro ou no plasma, mas, em geral, os resultados obtidos no plasma são ligeiramente mais baixos e a condição ideal de armazenamento é em temperatura de 4° C por, no máximo, 24 horas.

O treinamento do pessoal técnico e a adequada calibração dos equipamentos automatizados são fundamentais para a manutenção de elevados níveis de precisão e exatidão das dosagens.

Referências Bibliográficas

- III Diretriz Brasileira sobre Dislipidemia e Diretrizes de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arq Bras Cardiol 2001;77:1-48.
- 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;285:2486-97.
- Rifai, N; Warnick, G. R. – Lipids, lipoproteins, apolipoproteins, and other cardiovascular risk actors. In Burtis, C.A., Ashwood, E.R, Bruns, D.E. (eds) Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 4th edition. Philadelphia, Elsevier Saunders, 2006. Cap 26, p. 903-81.