

**Otávio Celeste Mangili**

**Efeitos da associação de sinvastatina e ezetimiba na cinética  
de quilomícrons artificiais em pacientes portadores de doença  
arterial coronária estável**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do título  
de Doutor em Ciências

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof Dr Raul Dias dos Santos Filho

São Paulo

2012

“O Saber é fonte de vida para quem o possui; para os insensatos, sua própria  
insensatez é seu castigo.”

**Provérbios, 16:23**

## Dedicatória

Aos meus pais, Pedro e Olímpia, pela educação, pelo exemplo, pelo apoio e  
incentivo a sempre progredir.

À minha esposa Andrea, que se fez pai e mãe quando não pude estar  
presente.

Aos meus meninos Guilherme e Gabriel, luzes de minha vida.

Ao grande amigo Dr. Sanderland Gurgel, irmão das horas difíceis.

## **Agradecimentos**

Ao meu orientador Prof. Dr. Raul Dias dos Santos Filho, exemplo de caráter, de retidão e de dignidade, pela inspiração, tanto na ciência como na vida. Muito obrigado por todos esses anos de convívio!

Aos meus pacientes que ajudaram na construção desta tese. Obrigado a todos!

Ao Prof. Dr. Raul Maranhão por ter viabilizado minha presença no Laboratório de Lípidos do InCor-HCFMUSP e pelas valiosas contribuições a este trabalho.

Ao Prof. Dr. Luiz Antonio Machado César, pela permissão da realização deste estudo com pacientes do ambulatório de coronariopatia crônica.

À amiga Dra. Ana Carolina Moron Gagliardi Miguel, pelo companheirismo e pela disposição ao trabalho.

Ao meu irmão Dr. Leonardo Mangili, pela ajuda intelectual e pela amizade.

À Sueli Stifone pelo convívio, pela palavra amiga e pela atenção nesses anos todos dedicados a esta tese.

Ao Dr. Marcio Miname, cujo vasto conhecimento sempre colocou à disposição, com simplicidade e paciência.

Ao amigo Dr. Ali Ahmed Abounouh, que me recebeu de braços abertos e me acolheu na cidade de Maringá.

Ao amigo Dr. Ari Chiva Roncaglia, meu grande mestre na arte da cardiologia ambulatorial.

Ao amigo Dr. Abdol Hakim Assef, pelas oportunidades na comunidade científica paranaense.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias.

Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª Ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação, 2005.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

## Sumário

Lista de abreviaturas e símbolos

Lista de figuras, tabelas e anexos

Resumo

Summary

1.	INTRODUÇÃO.....	1
1.1.	Metabolismo de quilomícrons.....	2
1.2.	Método de avaliação de cinética de quilomícrons.....	4
1.3.	Efeitos de estatinas e ezetimiba na cinética de quilomícrons.....	4
1.4.	Justificativa.....	7
2.	OBJETIVOS.....	9
2.2.	Objetivo primário.....	10
2.3.	Objetivo secundário.....	10
3.	MÉTODOS.....	11
3.1.	População, critérios de inclusão e exclusão.....	12
3.2.	Desenho do estudo.....	13
3.3.	Estudo de cinética de quilomícrons.....	15
3.4.	Modelo de análise compartimental.....	16
3.5.	Cálculo das taxas fracionais de remoção (TFR).....	18
3.6.	Análises bioquímicas dos pacientes.....	19
3.7.	Análise estatística.....	20
4.	RESULTADOS.....	21
4.1.	Comparação das características clínicas, bioquímicas e de	



cinética de quilomícrons no estado basal nos grupos 01 e 02.....	22
4.2. Efeitos do tratamento hipolipemiante sobre lípidos e apolipoproteínas.....	24
4.3. Efeitos do tratamento hipolipemiante sobre a cinética de quilomícrons artificiais.....	26
4.4. Análise compartimental nos grupos 1 e 2 ao longo das 3 avaliações.....	31
5. DISCUSSÃO.....	33
5.1. Efeitos sobre o perfil lipídico e apolipoproteína B.....	34
5.2. Efeitos sobre a cinética de quilomícrons artificiais.....	35
5.3. Possíveis implicações terapêuticas.....	39
6. LIMITAÇÕES.....	42
7. CONCLUSÕES.....	44
8. ANEXOS.....	46
9. REFERÊNCIAS.....	62

## Lista de Abreviaturas

<sup>3</sup> H-TG	<sup>3</sup> H-Trioleína
<sup>14</sup> C-CE	Oleato <sup>14</sup> C-Colesteril
AGL	Ácido Graxo Livre
ALT	Alanina Aminotransferase
ANOVA	Análise de Variância
Apo A-I	Apolipoproteína A-I
Apo B-100	Apolipoproteína B100
Apo B-48	Apolipoproteína B-48
Apo CII	Apolipoproteína CII
Apo CIII	Apolipoproteína CIII
Apo E	Apolipoproteína E
CPK	Creatinofosfoquinase
CT	Colesterol Total
DAC	Doença Arterial Coronariana
<i>et al.</i>	e todos
EZE	Ezetimiba
HCFMUSP	Hospital das Clinicas da Faculdade de Medicina da USP.
HDL-C	HDL-Colesterol
HMGCoA	Hidroximetil-glutaril-coenzima A
IMC	Índice de Massa Corpórea
LDL-C	LDL- Colesterol
LDL-r	Receptor Hepático Relacionado à LDL.
LPL	Lipase Lipoproteica

NPC1L1	<i>Nieman Pick C1 Like 1 Protein</i>
NYHA	<i>New York Heart Association</i>
RLP	Proteína Relacionada ao Receptor da LDL
TFR	Taxa Fracional de Remoção
TFR-CE	Taxa Fracional de Remoção de Colesterol Éster
TFR-TG	Taxa Fracional de Remoção de Triglicérides
TG	Triglicerídeos
VLDL-C	VLDL-Colesterol

## Lista de Símbolos

$\mu\text{Ci}$	Microcurie
$\mu\text{L}$	Microlitro
$\mu\text{m}$	Micrômetro
$\text{g/L}$	Gramas por litro
$\text{KBq}$	KiloBecquerel
$\text{mg}$	Miligrama
$\text{mg/dL}$	Miligrama por decilitro
$\text{mL}$	Mililitro
$\text{nm}$	Nanômetro
$P$	Nível descritivo de probabilidade do teste

## Lista de Figuras

<b>Figura 1-</b>	Desenho esquemático dos grupos de pacientes e etapas do estudo.....	14
<b>Figura 2-</b>	Modelo Compartimental de remoção de Quilomícrons artificiais	17
<b>Figura 3-</b>	Curva percentual de cinética de $^{14}\text{C}$ -CE no grupo 1.....	27
<b>Figura 4-</b>	Curva percentual de cinética de $^{14}\text{C}$ -CE no grupo 2.....	27
<b>Figura 5-</b>	Evolução de TFR-CE ao longo das 3 avaliações.....	28
<b>Figura 6-</b>	Curva percentual de cinética de $^3\text{H}$ -TG no grupo 1.....	29
<b>Figura 7-</b>	Curva percentual de cinética de $^3\text{H}$ -TG no grupo 2.....	30
<b>Figura 8-</b>	Evolução de TFR-TG ao longo das 3 avaliações.....	31

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1-</b>	Características clínicas dos grupos 1 e 2.....	22
<b>Tabela 2-</b>	Parâmetros laboratoriais iniciais dos grupos 1 e 2.....	23
<b>Tabela 3-</b>	Parâmetros de cinética de quilomícrons iniciais nos grupos 1 e 2.....	23
<b>Tabela 4-</b>	Efeitos do tratamento hipolipemiante sobre lípidos e parâmetros de segurança.....	24
<b>Tabela 5-</b>	Evolução de parâmetros de análise compartimental nos grupos 1 e 2.....	32

## Lista de anexos

<b>ANEXO A-</b>	<b>Tabelas completas com resultados estatísticos e de comparação de medidas repetidas (ANOVA) entre os grupos 1 e 2 ao longo das 3 avaliações.....</b>	<b>47</b>
<b>Tabela A1-</b>	Resultado das ANOVAs para as medidas laboratoriais.....	47
<b>Tabela A2-</b>	Resultado das comparações múltiplas para Apo A1.....	48
<b>Tabela A3-</b>	Resultado das comparações múltiplas para Apo B.....	48
<b>Tabela A4-</b>	Resultado das comparações múltiplas para CT.....	49
<b>Tabela A5-</b>	Resultado das comparações múltiplas para glicose.....	49
<b>Tabela A6-</b>	Resultado das comparações múltiplas para LDL-C.....	50
<b>Tabela A7-</b>	Resultado das comparações múltiplas para VLDL-C.....	50
<b>Tabela A8-</b>	Resultado das comparações múltiplas para TG.....	50
<b>Tabela A9-</b>	Resultado das comparações múltiplas para TFR-CE.....	50
<b>Tabela A10-</b>	Resultado das comparações múltiplas para TFR-TG.....	51
<b>Tabela A11-</b>	Resultado das ANOVAs para as medidas cinéticas.....	51
<b>Tabela A12-</b>	Resultado das comparações múltiplas para o percentual de remoção do colesterol pelo método <sup>3</sup> H-TG.....	52
<b>Tabela A13-</b>	Resultado das comparações múltiplas para o percentual de remoção do colesterol pelo método <sup>14</sup> C-CE.....	53
<b>Tabela A14-</b>	Descrição das medidas de transferências segundo grupos e avaliações.....	54
<b>Tabela A15-</b>	Resultado das ANOVAs para as medidas de transferência (Ks) entre grupos e avaliações.....	54

<b>Tabela A16-</b>	Resultado das comparações múltiplas de Tukey para comparar as medidas de transferência entre as avaliações	55
<b>ANEXO B-</b>	<b>Gráficos com resultados estatísticos e de comparação entre os grupos 1 e 2 ao longo das 3 avaliações.....</b>	<b>56</b>
<b>GráficoB1-</b>	Perfil médio e respectivos erros padrões de ALT segundo grupos.....	56
<b>GráficoB2-</b>	Perfil médio e respectivos erros padrões de Apo A1 segundo grupos.....	56
<b>GráficoB3-</b>	Perfil médio e respectivos erros padrões de Apo B segundo grupos.....	57
<b>GráficoB4-</b>	Perfil médio e respectivos erros padrões de CT segundo grupos.....	57
<b>Gráfico B5-</b>	Perfil médio e respectivos erros padrões de CK segundo grupos	58
<b>Gráfico B6-</b>	Perfil médio e respectivos erros padrões de glicose segundo grupos.....	58
<b>Gráfico B7-</b>	Perfil médio e respectivos erros padrões de HDL-C segundo grupos.....	59
<b>Gráfico B8-</b>	Perfil médio e respectivos erros padrões de LDL-C segundo grupos.....	59
<b>Gráfico B9-</b>	Perfil médio e respectivos erros padrões de VLDL-C segundo grupos.....	60
<b>Grafico B10-</b>	Perfil médio e respectivos erros padrões de TG segundo grupos	60
<b>Gráfico B11-</b>	Perfil médio e respectivos erros padrões de TFR-CE segundo grupos.....	61
<b>Gráfico B12-</b>	Perfil médio e respectivos erros padrões de TFR-TG segundo grupos.....	61



## Resumo

Mangili OC. *Efeitos da associação de sinvastatina e ezetimiba na cinética de quilomícrons artificiais em pacientes portadores de doença arterial coronária estável* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2012. 87p.

**FINALIDADE:** Defeitos na depuração plasmática de quilomícrons e seus remanescentes (QM) predis põem à doença arterial coronária (DAC). QM ligam-se a seus receptores hepáticos específicos (RLP) e aos receptores de LDL (LDL-r). As estatinas reduzem o LDL-colesterol (LDL-C) e melhoram a depuração plasmática de QM, aumentando a expressão hepática do LDL-r. A ezetimiba (EZE), um bloqueador da absorção do colesterol, também aumenta a expressão de LDL-r nos seres humanos. Este estudo avaliou os efeitos isolados da EZE na depuração plasmática de QM artificial em pacientes DAC. Também foram testados os efeitos da associação da sinvastatina em dose baixa com EZE em comparação com a máxima dose de sinvastatina sobre depuração plasmática de QM. **MÉTODOS:** 25 pacientes com DAC estável (idade  $61 \pm 5$  anos), após um período de seis semanas de *washout* de estatinas, foram randomizados para um ou outro tratamento com 10 mg EZE (grupo 1,  $n = 13$ ) ou sinvastatina 20 mg (grupo 2,  $n = 12$ ). Os pacientes evoluíram para 10mg + 20mg de sinvastatina com EZE ou sinvastatina 80 mg, respectivamente. Os estudos cinéticos foram realizados no início e após 6 e 12 semanas de cada braço do tratamento. A emulsão lipídica de QM marcada com  $^{14}\text{C}$ -CE (que mede a remoção QM e remanescente) e  $^3\text{H}$ -TG (que mede a lipólise de QM) foi injetada e amostras de sangue foram coletadas durante 60 minutos para determinar taxas de remoção fracionária de radioisótopos (TFR) por análise compartimental. As comparações foram feitas por análise de medidas repetidas (ANOVA). **RESULTADOS:** Não houve diferenças nas características clínicas e laboratoriais entre os grupos. As TFR de  $^{14}\text{C}$ -CE (1/min) no grupo 1 foram  $0,005 \pm 0,004$ ,  $0,011 \pm 0,007$  e  $0,018 \pm 0,004$  e no grupo 2 foram  $0,004 \pm 0,002$ ,  $0,011 \pm 0,008$  e  $0,019 \pm 0,007$ , respectivamente, à admissão, 6 e 12 semanas ( $p < 0,05$  e ns, respectivamente, para comparações de tempo e grupo). As TFR de  $^3\text{H}$ -TG (1/min) no grupo 1 foram de  $0,017 \pm 0,01$ ,  $0,024 \pm 0,011$  e  $0,042 \pm 0,013$  e no grupo 2 foi de  $0,01 \pm 0,016$ ,  $0,022 \pm 0,009$  e  $0,037 \pm 0,011$ , respectivamente, no início do estudo, 6 e 12 semanas ( $p < 0,05$  e ns, respectivamente, para comparações de tempo e grupo). Mudanças semelhantes também foram encontradas para o LDL-C (mg/dL):  $142 \pm 22$ ,  $113 \pm 19$ ,  $74 \pm 17$  para grupo 1 e  $119 \pm 22$ ,  $92 \pm 15$  e  $72 \pm 15$  para o grupo 2, respectivamente, na admissão, 6 e 12 semanas ( $p < 0,05$  para o tempo e ns para o grupo). **CONCLUSÃO:** EZE isolada aumentou a remoção do plasma de QM e remanescentes e a associação com a sinvastatina aumentou os seus efeitos. A sinvastatina em dose baixa associada à EZE apresentou efeitos favoráveis semelhantes tanto na depuração plasmática de QM quanto na redução de LDL-C em comparação com 80mg de sinvastatina.

**Descritores:** 1.Doença da artéria coronariana 2.Quilomícrons 3.Cinética 4.Ezetimiba 5.Sinvastatina.

## Summary

Mangili OC. *Favourable effects of ezetimibe alone or in association with simvastatin on the removal from plasma of chylomicrons in coronary heart disease subject*. [thesis]. São Paulo. "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2012. 87p.

**PURPOSE:** Defects on plasma clearance of chylomicrons and their remnants (CM) predispose to coronary heart disease (CHD). CM bind both to their specific liver receptors (LRP) and to the LDL receptors (LDL-r). Statins reduce LDL-cholesterol (LDL-C) and improve the plasma clearance of CM by increasing the expression of hepatic LDL-r. Ezetimibe (EZE), a cholesterol absorption blocker, also increases LDL-r expression in humans. This study evaluated the isolated effects of EZE on the plasma clearance of artificial CM in CHD subjects. We also tested the effects of the association of low dose simvastatin with EZE in comparison with maximal simvastatin dose upon CM plasma clearance. **METHODS:** 25 stable CHD patients (age  $61 \pm 5$  years, 98%men) after a 6 week statin washout period were randomized for either treatment with EZE 10 mg (group 1, n= 13) or simvastatin 20 mg (group 2 n=12). Patients were progressed to 10mg EZE+ simvastatin 20mg or simvastatin 80 mg, respectively. Kinetic studies were done at baseline and after 6 and 12 weeks of each treatment arm. The CM emulsion labelled with  $^{14}\text{C}$ -CE (that measures CM and remnant removal) and  $^3\text{H}$ -TG (that measures CM lipolysis) was injected and blood samples were collected during 60 minutes to determine radioisotopes fractional catabolic rates (FCR) by compartmental analysis. Comparisons were made repeated measurements ANOVA. **RESULTS:** There were no differences in clinical and laboratory characteristics between the groups. The  $^{14}\text{C}$ -CE FCR (1/min) in group 1 were  $0.005 \pm 0.004$ ,  $0.011 \pm 0.007$  and  $0.018 \pm 0.004$  and in group 2 were  $0.004 \pm 0.002$ ,  $0.011 \pm 0.008$  and  $0.019 \pm 0.007$  respectively at baseline, 6 and 12 weeks ( $p < 0.05$  and n.s respectively for time and group comparisons). The  $^3\text{H}$ -TG FCR (1/min) in group 1 were  $0.017 \pm 0.01$ ,  $0.024 \pm 0.011$  and  $0.042 \pm 0.013$  and in group 2 were  $0.01 \pm 0.016$ ,  $0.022 \pm 0.009$  and  $0.037 \pm 0.011$  respectively at baseline, 6 and 12 weeks ( $p < 0.05$  and n.s respectively for time and group comparisons). Similar changes were also found for LDL-C (mg/dL):  $142 \pm 22$ ,  $113 \pm 19$ ,  $74 \pm 17$  for group 1 and  $119 \pm 22$ ,  $92 \pm 15$ , and  $72 \pm 15$  for group 2 respectively at baseline, 6 and 12 weeks ( $p < 0.05$  for time and n.s. for group). **CONCLUSION:** EZE alone increased the removal from plasma of CM and remnants, the association with simvastatin increased its effects. The low dose simvastatin associated with EZE showed similar favourable effects in both CM plasma clearance and LDL-C in comparison with 80 mg simvastatin.

Descriptors: 1. Coronary artery disease 2. Chylomicrons 3. Kinetics 4. Ezetimibe 5. Simvastatin

## **1- INTRODUÇÃO**

### 1.1. Metabolismo de Quilomícrons:

Quilomícrons são partículas formadas no período pós-prandial e são as responsáveis pelo transporte sanguíneo dos lípidos originários na dieta. Essas lipoproteínas são constituídas na sua maior parte por um núcleo de triglicerídeos (cerca de 90% de seu peso) e por pequenas quantidades de ésteres de colesterol e vitaminas, circundadas por uma monocamada de fosfolípidos<sup>1</sup>. Sua porção proteica, ou seja, as apolipoproteínas (Apo) permanecem aderidas à superfície dos quilomícrons e não excedem 2% de seu peso total, sendo as mais comuns Apo B-48, Apo E, Apo C-II e Apo C-III, que servem para manter a estrutura desta lipoproteína e modulam a atividade das enzimas lipolíticas ou agem como ligantes para os receptores celulares.

Na circulação, os quilomícrons se ligam à superfície endotelial dos capilares e a hidrólise de triglicérides acontece por ação da lipase lipoproteica (LPL), liberando assim ácidos graxos e glicerol para as células ao redor, o que facilita sua absorção e acúmulo em vários tecidos, principalmente adiposo e muscular. A ação da lipase é facilitada pela Apo C-II na superfície da partícula<sup>2</sup>. Este mecanismo é extremamente importante para o trânsito energético no organismo.

Após essa fase inicial, os remanescentes de quilomícrons, menores e depletados de triglicérides, são sequestrados no espaço de Disse e se ligam a receptores hepáticos por intermédio da Apo E. Dentre estes, podemos citar o receptor RLP (proteína relacionada ao receptor de LDL-C) e o próprio receptor da LDL (receptor B/E). Além disso, a lipase hepática, LPL e proteoglicanos

como os HSPG (proteoglicanos de heparana sulfato) também participam da remoção hepática dos remanescentes de quilomícrons<sup>3</sup>. É importante salientar que a Apo B-48, principal componente apoproteico dos quilomícrons e remanescentes, apresenta apenas função estrutural, sendo a Apo E a principal responsável pela interação dessas partículas com o fígado. Quilomícrons e VLDL-C compartilham vias catabólicas comuns no que se refere à LPL e, pelo menos em parte, nos mecanismos de captação celular<sup>4</sup>.

Dentro das classes de lipoproteínas, os quilomícrons são as de mais rápida remoção do plasma e sua meia vida é de cerca de 15 minutos em Homens saudáveis. A cinética de remoção de quilomícrons da circulação tem sido correlacionada com a incidência e gravidade de lesão aterosclerótica<sup>5, 6</sup>. Vários estudos mostraram menor remoção plasmática de quilomícrons em pacientes com doença arterial coronariana (DAC) quando comparada a indivíduos sem aterosclerose. Esses achados são encontrados mesmo em indivíduos normolipidêmicos<sup>1, 2, 7, 8</sup>.

Os quilomícrons participam do processo aterosclerótico pela geração de células espumosas, por deposição direta desses remanescentes no espaço subendotelial da parede arterial, além de interferência com o transporte reverso de colesterol<sup>9</sup>. Dessa forma, tratamentos que diminuam a concentração plasmática dos quilomícrons, por acelerarem seu catabolismo plasmático, poderiam ser utilizados para prevenir a aterosclerose.

### **1.2. Método de Avaliação de Cinética de Quilomícrons:**

Dentre os métodos utilizados para avaliar a cinética plasmática dos quilomícrons, podemos citar as emulsões lipídicas similares aos quilomícrons marcados com radioisótopos. Estas oferecem uma visão integrada e clara dos passos do catabolismo dos quilomícrons no plasma<sup>7, 8, 10, 11</sup>. Vários estudos mostraram que a cinética dos quilomícrons artificiais está alterada em pacientes portadores de dislipidemias e/ou DAC<sup>5, 7, 11, 12, 13</sup>. Foram encontrados defeitos tanto na lipólise como na remoção dos remanescentes de quilomícrons, sendo que em portadores de DAC estas se mostravam diminuídas<sup>7</sup>. Outros estudos mostraram também que cinética de quilomícrons alterada é marcadora da progressão angiográfica e de um curso mais grave da DAC<sup>5, 6</sup>.

### **1.3. Efeitos de estatinas e ezetimiba na cinética de quilomícrons:**

Dentre as drogas hipolipemiantes, as estatinas são os medicamentos mais potentes e seguros para a diminuição dos níveis plasmáticos de LDL-C, levando à sua diminuição em 18-55%. Elas agem inibindo a Hidroxi-metil-glutaril coenzima A redutase (HMGCo-A redutase), que atua na via de síntese de colesterol. A inibição enzimática resulta em produção intracelular diminuída de colesterol pelo fígado, que leva ao aumento de expressão do receptor de LDL hepático<sup>14</sup>, o que aumenta a remoção do LDL-C da circulação.

Os efeitos das estatinas em eventos clínicos foram estudados em vários estudos placebo-controlado randomizando mais de 170.000 pacientes para terapia com estatina ou placebo por tempo entre 3-5 anos. Estes estudos demonstraram de maneira consistente o benefício clínico do uso de estatinas, incluindo redução de morbidade e mortalidade cardiovascular, mortalidade global, procedimentos de revascularização coronariana e acidente vascular cerebral, como demonstrado em metanálises recentes<sup>15, 16</sup>. Dentro dessa classe de medicamentos existe a sinvastatina, medicamento de baixo custo e grande eficácia em diminuir eventos cardiovasculares como evidenciado no estudo 4S<sup>17</sup>.

Foi demonstrado que estatinas aumentam a remoção plasmática de quilomícrons artificiais, provavelmente por induzirem maior expressão do receptor hepático de LDL<sup>10, 11, 14</sup>. Neste contexto, Santos *et al.* encontraram aumento da remoção plasmática de remanescentes de quilomícrons artificiais em indivíduos com DAC tratados com 40mg de pravastatina<sup>13</sup>. Da mesma forma, doses diferentes de atorvastatina (10mg e 40mg) foram avaliadas em relação ao metabolismo intravascular e cinética plasmática de emulsão de quilomícrons artificiais em indivíduos portadores de dislipidemia aterogênica<sup>12</sup>. Mostrou-se que a atorvastatina acelera de maneira dose dependente a remoção de quilomícrons artificiais e seus remanescentes, reduzindo o potencial aterogênico destas partículas ricas em triglicerídeos.

A ezetimiba, um inibidor da absorção de colesterol, surge como mais uma opção terapêutica para o controle das dislipidemias. A droga age inibindo a absorção do colesterol dietético e biliar na borda em escova do epitélio intestinal, sem, contudo, afetar a absorção de vitaminas lipossolúveis<sup>18, 19, 20</sup>.

---

Além disso, a ezetimiba glucuronizada sofre recirculação êntero-hepática, devolvendo repetidamente a droga ao seu sítio de ação<sup>19</sup>. Achados recentes sugerem que a NPC1L1 (*Nieman-Pick C1 Like 1 protein*) tem um papel crítico na absorção de colesterol intestinal, sendo estabelecida como alvo direto para ação da ezetimiba<sup>21</sup>.

Resultados de estudos em animais e no Homem evidenciaram as propriedades hipolipemiantes da ezetimiba como monoterapia<sup>20</sup>, ou em associação com as diversas estatinas<sup>22</sup>. No Homem, a ezetimiba em dose de 10mg ao dia reduz a concentração de LDL-C em 12-14%. Contudo, quando associada à estatina, ela mostra seu potencial terapêutico, pois sua associação com baixas doses de estatina apresenta efeitos hipolipemiantes similares ao uso de suas doses máximas. Dessa maneira, a associação de baixas doses de estatinas com ezetimiba seria uma alternativa à titulação progressiva da estatina. Isso seria decorrente do fato de que a associação, por reduzir de forma intensa a concentração intra-hepática de colesterol, aumentaria a expressão dos receptores de LDL na membrana celular dos hepatócitos<sup>23, 24</sup>. Isto levaria a uma maior remoção plasmática das lipoproteínas que se ligam a esses receptores.

Existem resultados controversos sobre os efeitos isolados da ezetimiba na remoção plasmática dos quilomícrons. Recentemente, um estudo mostrou que o uso isolado da ezetimiba aumenta a remoção plasmática das lipoproteínas que contêm apo B-100 (VLDL e remanescentes e LDL), sem, contudo, afetar a remoção das que contêm Apo B-48<sup>25</sup>, objetivo esse alcançado com a associação de sinvastatina 40mg à ezetimiba<sup>26</sup>. Por outro lado, Yunoki *et al.* demonstraram que, isoladamente, a ezetimiba diminuiu a



---

lipemia pós-prandial, representada pela curva de triglicérides, colesterol de lipoproteínas remanescentes (RLPC) e Apo B-48 em 10 voluntários normolipidêmicos<sup>27</sup>. Dessa forma, até o presente momento não há consenso sobre os efeitos farmacológicos da ezetimiba isolada ou em associação com estatinas sobre o metabolismo dos quilomícrons e remanescentes.

#### **1.4. Justificativa:**

Na literatura existem vários trabalhos que mostram que a remoção plasmática de quilomícrons artificiais está reduzida em indivíduos com DAC e que estas alterações correlacionam-se com uma maior progressão clínica e angiográfica da doença<sup>2, 5, 6, 7</sup>.

A terapia com diferentes estatinas em vários esquemas demonstrou ser eficaz em aumentar a cinética de remoção de quilomícrons artificiais em indivíduos com coronariopatia, sendo esse efeito dose-dependente<sup>12, 13, 28, 29</sup>. Tal fato pode ser explicado pelo achado de que existe correlação inversa entre a remoção plasmática dos remanescentes de quilomícrons e as concentrações plasmáticas de LDL-C e Apo B-100<sup>11</sup>. Esta correlação, por sua vez, poderia ser uma medida substituta da eficácia do fígado em captar as lipoproteínas circulantes por um aumento da atividade de seus receptores de LDL. Além disso, o uso de estatinas, diminuindo a concentração plasmática de lipoproteínas ricas em apo B-100, que incluem não apenas as LDL, mas também VLDL e seus remanescentes, reduz a competição destas últimas com os quilomícrons pelos mecanismos de remoção.

Até o momento, ainda não foram esclarecidos quais os efeitos da ezetimiba, usada isoladamente ou associada às estatinas, sobre a cinética dos quilomícrons. Isto é importante, já que é necessário que esta associação de drogas hipolipemiantes, além de reduzir o LDL-C de forma intensiva, demonstre outros efeitos benéficos que as estatinas exercem sobre fatores associados à doença aterosclerótica.

Da mesma forma, do ponto de vista prático, é necessário comparar os efeitos da titulação da dose de estatina *versus* a associação de ezetimiba e estatina em sua dose inicial sobre a cinética de quilomícrons artificiais.

## **2- OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo primário:**

Avaliar em portadores de doença arterial coronariana:

- 1- o efeito do uso isolado da ezetimiba sobre a remoção plasmática de quilomícrons artificiais;
- 2- a possível potencialização da remoção de quilomícrons artificiais pela associação de ezetimiba com estatinas (sinvastatina).

### **2.2. Objetivo secundário:**

Comparar os efeitos sobre a cinética de quilomícrons artificiais dos seguintes esquemas terapêuticos:

- 1- dose inicial de ezetimiba 10mg *versus* sinvastatina 20mg;
- 2- associação de ezetimiba 10mg com sinvastatina 20mg *versus* aumento de dose de sinvastatina de 20mg para 80 mg.

### **3- MÉTODOS**

### **3.1. População, critérios de inclusão e exclusão:**

Foram incluídos neste estudo 25 pacientes previamente diagnosticados com doença isquêmica coronariana crônica estável, em seguimento clínico no ambulatório da Unidade Clínica de Coronariopatia Crônica do Instituto do Coração / INCOR-HCFMUSP.

Critérios de inclusão: pacientes com idade entre 30-75 anos, acompanhados em ambulatório de coronariopatia crônica, com LDL-C plasmático superior a 100 mg/dl e triglicérides plasmático menor que 500 mg/dl, portadores de DAC estável (definida por pelo menos uma obstrução coronariana acima de 70% em cineangiocoronariografia ou procedimento de revascularização prévio – cirúrgico ou percutâneo) sem disfunção ventricular.

Critérios de exclusão: alcoolismo, doenças da tireóide, diabetes melito, insuficiência cardíaca congestiva em grau avançado (classe funcional grau III e IV da New York Heart Association), infarto agudo do miocárdio nos últimos 6 meses, intolerância prévia a hipolipemiantes, neoplasias, doença renal avançada, doenças inflamatórias crônicas, distúrbios do cálcio, concentração sérica de TG >500mg/dl e de LDL-C >190mg/dl e uso de hipolipemiantes nas seis semanas prévias à primeira análise de cinética de quilomícrons.

### 3.2. Desenho do estudo (figura 1):

Após a suspensão inicial de terapia com estatinas por 6 semanas (*wash-out*), os pacientes foram randomizados em 2 grupos: 13 pacientes (grupo 1) para tratamento com ezetimiba 10mg/dia, 12 pacientes (grupo 2) para terapia com sinvastatina 20mg. Nesta fase, os pacientes foram tratados com a droga escolhida por 06 semanas e submetidos à avaliação da cinética de quilomícrons artificiais antes e após o tratamento.

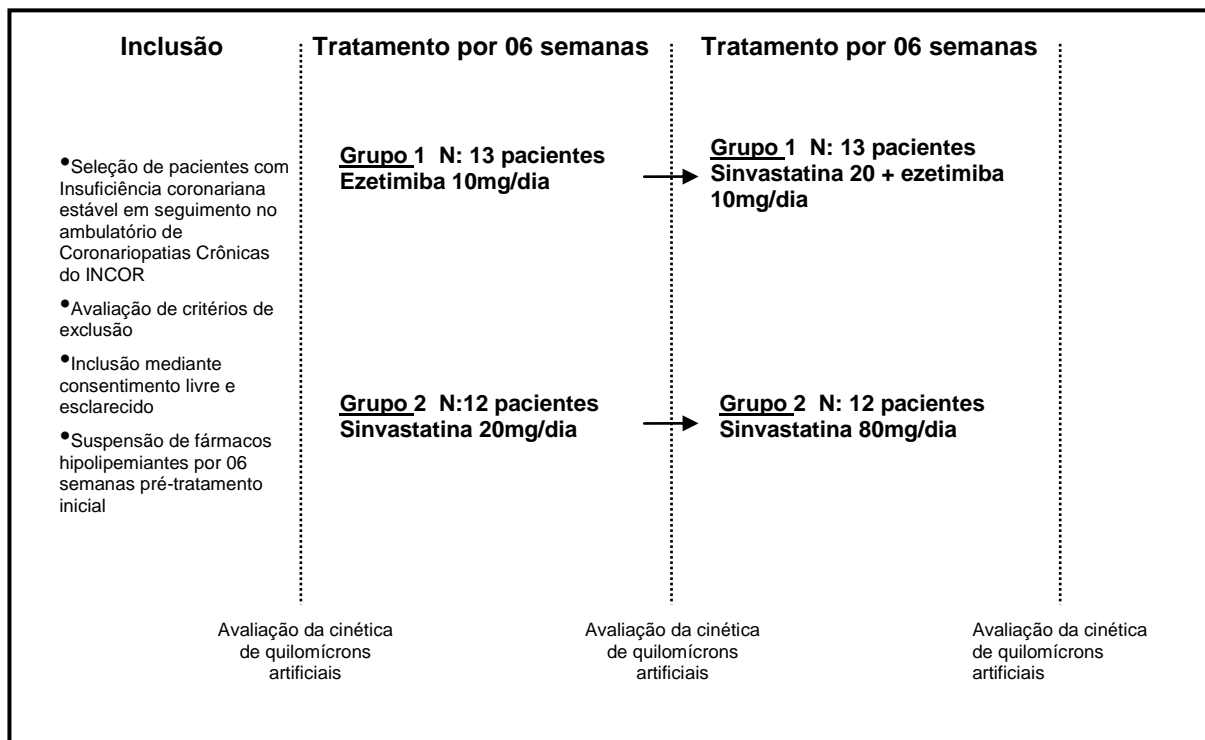
Em uma segunda fase, os pacientes receberam otimização do tratamento hipolipemiante para uso de sinvastatina 20mg e ezetimiba 10mg/dia (grupo 1) ou sinvastatina 80mg/dia (grupo 2) por mais 6 semanas. Nova avaliação da cinética de quilomícrons artificiais foi realizada ao término da segunda fase.

Foram analisados dados de cinética de quilomícrons basal (sem terapia hipolipemiante por mínimo de 6 semanas), após monoterapia em dose padrão (primeira fase) e terapia combinada com associação de estatina e ezetimiba ou estatina em dose terapêutica máxima (segunda fase) em pacientes com DAC estabelecida.

As análises bioquímicas, bem como as avaliações de cinética de quilomícrons artificiais, foram financiadas pelo projeto FAPESP nº0408048-3 intitulado "Saída do colesterol livre das partículas de lipoproteínas e deposição deste colesterol na parede arterial: um novo mecanismo de aterogênese". As drogas hipolipemiantes foram fornecidas pelo laboratório Merck, Sharp & Dohme (sinvastatina e ezetimiba).

Em relação à suspensão de fármaco hipolipemiante em indivíduos com doença arterial coronariana estável (*wash-out*) pelo período de 6 semanas, há evidência de que não há aumento de risco de síndrome coronariana aguda na suspensão de estatina por até 6 semanas<sup>30</sup>. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da USP, em sessão de 17 de janeiro de 2007, sob número 1068/06. O estudo encontra-se registrado em *clinicaltrials.gov* sob número NCT00481351.

**Figura 1-** Desenho esquemático dos grupos de pacientes e etapas do estudo.





### 3.3. Estudo de cinética de quilomícrons:

O estudo de cinética de quilomícrons foi realizado conforme já publicado na literatura<sup>2, 5, 12, 13</sup>.

A emulsão lipídica após preparo apresenta a seguinte composição química percentual: Trioleína  $76,5 \pm 4,1\%$ ; colesterol livre  $1,9 \pm 0,3\%$ ; éster de colesterol  $11,2 \pm 3,0\%$  e fosfolípidos  $10,4 \pm 1,3\%$  e o tamanho variando de 80 a 100 nm. É feita de misturas lipídicas emulsificadas por irradiação ultrassônica e purificadas por ultracentrifugação em gradientes de densidade. Oleato  $^{14}\text{C}$ -Colesteril ( $^{14}\text{C}$ -CE) e  $^3\text{H}$ -Trioleína ( $^3\text{H}$ -TG) são adicionados (TG, Amershan, UK) à mistura para determinação da cinética plasmática. A emulsão é então esterilizada através de filtro de  $2\mu\text{m}$ .

Os pacientes foram orientados a comparecer ao laboratório de Metabolismo Lipídico do InCor/HCFMUSP às 8:00h em jejum de pelo menos 12h para coleta sanguínea para análise lipídica. A emulsão lipídica marcada radioativamente foi injetada em *bolus* (Volume 200-300 $\mu\text{l}$ ) contendo 74KBq(2 $\mu\text{Ci}$ ) de  $^{14}\text{C}$  e 148KBq(4 $\mu\text{Ci}$ ) de  $^3\text{H}$  por cateterização de veia antecubital. Essas concentrações equivalem respectivamente a 0,02 mSV e 0,0012 mSV de colesterol e triglicérides radioativos.

A veia antecubital contralateral foi canulada a fim de se obterem amostras de sangue para medida de radioatividade; solução salina sem heparina em infusão lenta foi administrada para garantir patência do vaso. A infusão salina não excedeu 100 ml.

---

Depois disso, amostras de sangue foram coletadas em intervalos pré-estabelecidos a saber: 2, 4, 6, 10, 15, 20, 30, 45 e 60 minutos depois da injeção da emulsão.

Após a coleta do sangue, o plasma foi separado por centrifugação em alíquotas de 1 ml, e então transferidos para contadores contendo 7 ml de solução de cintilação PPO:DM-POPOP:Triton X-100/tolueno (5g:0,5:333ml/667ml). A radioatividade nas amostras foi determinada utilizando-se espectrômetro Packard 160 TR (Packard Meridien, USA).

A estimativa do tempo do metabolismo da emulsão lipídica foi avaliada por análise compartimental de acordo com a modificação do modelo proposto por Redgrave e Zech<sup>31, 32, 33</sup>.

A dose de radioatividade mesmo após os 3 estudos cinéticos é bem inferior (0,0636 mSv) à dose máxima anual permitida pelo Comitê Internacional de proteção à radioatividade de 50mSv.

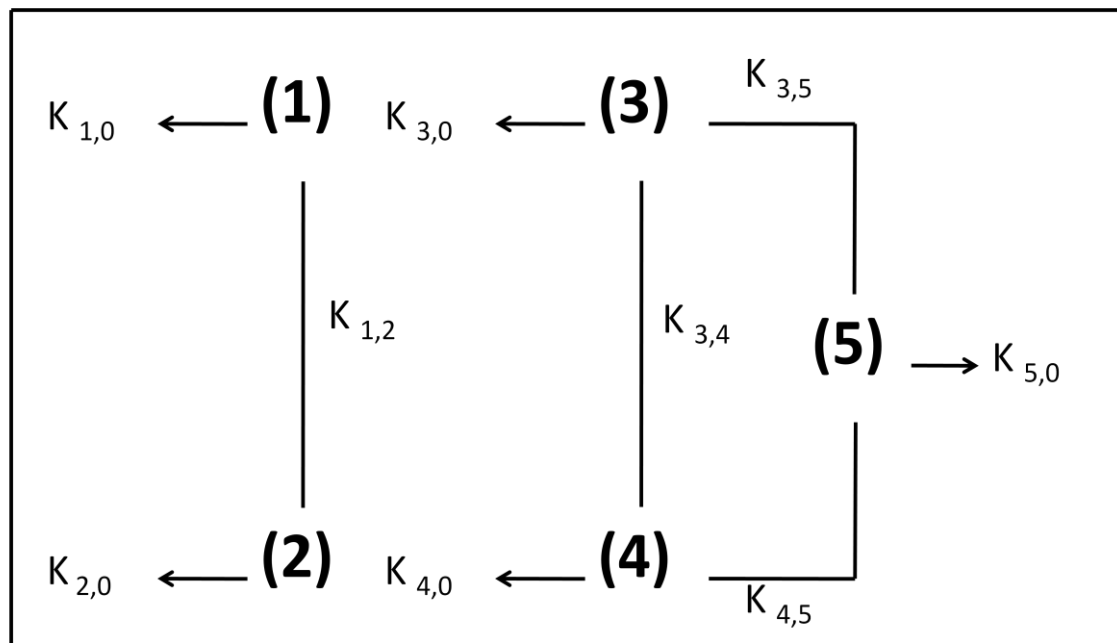
### **3.4. Modelo de análise compartimental:**

A emulsão de <sup>14</sup>C-CE pode ser considerada um marcador confiável da taxa de remoção de partículas em emulsão, uma vez que menos de 3% dessas partículas são transferidas da emulsão injetada para as frações lipoproteicas do plasma<sup>7, 34</sup>. O metabolismo plasmático de <sup>3</sup>H-TG reflete uma combinação de 2 processos: a liberação de ácidos graxos e a remoção dos remanescentes da emulsão<sup>7, 34</sup>.

Os efeitos dos diferentes esquemas medicamentosos usados em ambos os grupos no metabolismo da emulsão lipídica semelhante a quilomícrons

foram avaliados por análise compartimental de acordo com modificação do modelo proposto por Redgrave e Zech<sup>32, 35</sup>. O modelo cinético usado nesse estudo (Figura 2) está em conformação com o padrão de curva experimental que mostra o seguinte comportamento: ambas as curvas de decaimento de radiação (<sup>14</sup>C-CE e <sup>3</sup>H-TG) mostram um rápido decaimento, seguido de um decaimento menos pronunciado e finalmente as curvas tendem a um platô ou pequeno incremento sugerindo recirculação de componentes radioativos incorporados no VLDL-C secretado pelo fígado.

**Figura 2** – Modelo Compartimental de remoção de Quilomícrons artificiais



legenda: compartimentos (1) e (3): emulsão semelhante a quilomícrons no plasma. (1)= fração de <sup>14</sup>C-CE e (3)=fração de <sup>3</sup>H-TG. Compartimentos (2) e (4): remanescentes de partículas. Compartimento (5): ácidos graxos livres (TG lipolizado).  $K_{1,0}=K_{3,0}$ = remoção direta do plasma.  $K_{1,2}=K_{3,4}$ = transformação em remanescente.  $K_{2,0}=K_{4,0}$ = remoção do remanescente.  $K_{5,0}$ =remoção de ácido graxo livre.  $K_{3,5}$ = formação de AGL a partir de quilomícrons.  $K_{4,5}$ = formação de AGL a partir de remanescentes.

Os compartimentos (1) e (3) correspondem à emulsão semelhante a quilomícrons injetada no plasma, sendo que (1) corresponde à fração <sup>14</sup>C-CE e (3) à fração <sup>3</sup>H-TG. As constantes  $K_{x,y}$  representam a transferência ou taxas catabólicas fracionais do compartimento x para o compartimento y ao longo do

tempo. O modelo proposto por Redgrave e Zech<sup>32</sup> não considera uma saída direta dos compartimentos (1) e (3), mas a ausência de um platô inicial na curva de decaimento, como mostrado previamente<sup>7, 34</sup>, sugere que uma fração das partículas injetadas, denominada no nosso estudo de  $K_{1,0}$  e  $K_{3,0}$ , é removida diretamente do plasma pelo fígado ou outros tecidos (remoção inespecífica).  $K_{1,0}$  é igual a  $K_{3,0}$  porque representam a saída da partícula como um todo. Os compartimentos (2) e (4) representam o remanescente da partícula e o compartimento (5) é o ácido graxo livre (TG lipolisado). As constantes  $K_{1,2}$  e  $K_{3,4}$  representam a transformação em remanescente e  $K_{3,4}=K_{1,2}$ , pois a transformação em remanescente é igual tanto para a partícula vista pelo CE como pelo TG. As constantes  $K_{2,0}$  e  $K_{4,0}$  estão relacionadas à saída do remanescente de partícula, sendo  $K_{4,0}=K_{2,0}$  pois reflete a saída do remanescente indiferentemente se é marcado pelo CE ou TG, sendo que essas constantes dependem fundamentalmente da captação por meio da ação de receptores hepáticos<sup>12</sup> e representam a fase lenta da curva de decaimento.  $K_{3,5}$  representa a fração de ácidos graxos livres (AGL) formada a partir da ação da LPL nos quilomícrons e  $K_{4,5}$  a partir de remanescentes de quilomícrons.  $K_{5,0}$  representa a remoção das partículas de AGL do compartimento intra-vascular.

### 3.5. Cálculo das taxas fracionais de remoção (TFR):

As taxas fracionais de remoção (TFR) do  $^3\text{H-TG}$  e do  $^{14}\text{C-CE}$  medidas em  $\text{min}^{-1}$  foram calculadas pelas fórmulas:

$$\text{TFR } ^{14}\text{C-CE: } (k_{1,0} \times X_2 + k_{2,0} \times X_3) / (X_2 + X_3)$$

$$X_2: 1/k_{1,1}$$

$$X_3: k_{1,2} / (k_{1,1} \times k_{2,2})$$

---

$$\text{TFR-}^3\text{H-TG: } (k_{3,0} \times X_4 + k_{4,0} \times X_5 + k_{5,0} \times X_6) / (X_4 + X_5 + X_6)$$

$$X_4: 1/k_{3,3}$$

$$X_5: k_{3,4} / (k_{3,3} \times k_{4,4})$$

$$X_6: k_{3,4} \times k_{4,5} / (w_3 \times w_4 \times w_5) + k_{3,5} / (w_3 \times w_5)$$

### 3.6. Análises bioquímicas dos pacientes:

As determinações laboratoriais foram realizadas no Laboratório Central do HCFMUSP.

A coleta de sangue foi realizada no início, 6 semanas e 12 semanas após o início do experimento. Os pacientes estavam em jejum de 12 horas. Amostras de sangue foram colhidas em tubo de ensaio contendo EDTA 0,1% (10µl/ml de sangue).

As análises lipídicas foram determinadas por métodos enzimáticos (kits comerciais – Roche Diagnostics, Somerville, NJ, EUA) e LDL-C calculado pela fórmula de Friedewald ( $LDL = CT - HDL - TG/5$ ). Quando o valor de TG superou 400 mg/dl, foi realizada determinação direta do LDL-C, usando kit enzimático da Roche Diagnostics, Somerville, NJ, EUA. As quantificações das apolipoproteínas Apo A-I e apo B-100 foram efetuadas utilizando-se kits comerciais (Pharmacia, Uppsala, Suécia). As análises de glicemia, CPK e TGP foram determinadas usando-se métodos automatizados padronizados (*Roche, Mannheim, Germany*).

### 3.7. Análise estatística:

O cálculo da amostra baseia-se em estudos prévios que avaliaram o uso de hipolipemiantes sobre a cinética dos quilomícrons artificiais<sup>12, 13, 28</sup>. As variáveis contínuas são expressas como média e desvio padrão. As variáveis categóricas são expressas como N(%). A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov.

Para responder ao objetivo do estudo, as variáveis antropométricas foram descritas segundo grupos e comparadas com uso de testes t-student. As variáveis categóricas foram avaliadas pelo teste exato de Fischer. As medidas laboratoriais foram descritas segundo grupos e avaliação e comparadas as médias com uso de ANOVAs com medidas repetidas e dois fatores supondo matriz de correlações não estruturadas entre as avaliações. Para os percentuais de remoção do colesterol com os dois métodos utilizados foram descritos os valores segundo grupos, avaliação e tempo e comparadas as médias com uso de ANOVAs com medidas repetidas e três fatores supondo matriz de correlações componente simétrica entre os tempos e avaliações. Para as análises que apresentaram significância estatística foram realizadas comparações múltiplas de Tukey para verificar entre quais avaliações, grupos ou tempos ocorrem as diferenças.

Os resultados foram ilustrados com uso de gráficos de perfis médios com os respectivos erros padrões e os testes foram realizados ao nível de significância de 5%.

## **4- RESULTADOS**

#### 4.1. Comparação das características clínicas, bioquímicas e de cinética de quilomícrons no estado basal nos grupos 1 e 2:

As características clínicas e laboratoriais dos pacientes estudados encontram-se nas tabelas 1 a 3. Participaram do estudo 25 pacientes, sem que houvesse nenhuma perda durante o seguimento. A idade média foi de 60 anos (51-68 anos), 20 homens (80%). Não havia diferença significativa na idade, sexo e circunferência abdominal entre os grupos, contudo o índice de massa corporal (IMC) foi maior no grupo 2. Quando às variáveis laboratoriais, só havia diferença entre os grupos na avaliação pré-tratamento em relação à ALT, mais elevada no grupo 1, contudo ainda dentro de valores da normalidade (tabela 2). Também não havia diferença nas taxas fracionais de remoção de  $^{14}\text{C-CE}$  ou de  $^3\text{H-TG}$  e nas constantes de transferência entre os compartimentos ( $K_{x,y}$ ) entre os grupos (tabela 3).

**Tabela 1-** Características clínicas dos grupos 1 e 2.

<i>Variável</i>	<i>Grupo 1 N=13 pacientes</i>	<i>Grupo 2 N=12 pacientes</i>	<i>P</i>
<b>Idade (anos)</b>	61±6	60±3	0,14
<b>Sexo Masculino</b>	10 (77%)	10 (83%)	1,0
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	27±3	28±3	0,02
<b>Circunferencia abdominal (cm)</b>	94±9	97±8	0,53
<b>Tabagismo</b>	4 (30%)	2 (16%)	0,64
<b>Hipertensão arterial</b>	8 (61%)	10 (83%)	0,38

Legenda: IMC=índice de massa corporal. Resultados em média e desvio padrão ou número (percentagem)



**Tabela 2-** Parâmetros laboratoriais iniciais dos grupos 1 e 2

<i>Variável</i>	<i>Grupo 1</i> <i>N=13</i>	<i>Grupo 2</i> <i>N=12</i>	<i>P</i>
CT	222±24	215±33	0,08
HDL-C	40±11	45±13	0,46
LDL-C	141±21	139±22	0,14
VLDL-C	33±15	42±22	0,29
TG	165±80	213±112	0,68
Apo B	123±32	115±19	0,13
Apo A-I	139±29	136±30	0,58
Glicose	93±9	102±11	0,59
ALT	24±11	20±4	0,05
CPK	164±86	119±52	0,22

Legendas: ALT=alanina aminotransferase; Apo A1=apolipoproteína A1; Apo B=apolipoproteína B; CT= colesterol total; CPK=creatinofosfoquinase; HDL-C: HDL colesterol; LDL-C: LDL colesterol; VLDL-C: VLDL colesterol; TG triglicerídeos. Resultados em média e desvio padrão. Parâmetros lipídicos em mg/dl. Parâmetros de segurança em U/ml.

**Tabela 3-** Parâmetros de cinética de quilomícrons iniciais dos grupos 1 e 2.

<i>Variável</i>	<i>Grupo 1</i> <i>N=13</i>	<i>Grupo 2</i> <i>N=12</i>	<i>P</i>
TFR-CE	0,005±0,004	0,004±0,002	0,09
TFR-TG	0,017±0,010	0,0096±0,016	0,31
K <sub>1,0</sub> =K <sub>3,0</sub>	0,098±0,097	0,095±0,053	0,99
K <sub>2,0</sub> =K <sub>4,0</sub>	0,004±0,004	0,003±0,002	0,10
K <sub>5,0</sub>	0,459±0,363	0,432±0,451	0,63
K <sub>1,2</sub> =K <sub>3,4</sub>	0,140±0,125	0,093±0,047	0,07
K <sub>3,5</sub>	0,099±0,094	0,115±0,028	0,98
K <sub>4,5</sub>	0,019±0,009	0,016±0,007	0,95

Legenda: TFR-CE= taxa fracional de remoção de colesterol Ester; TFR-TG =taxa fracional de remoção de triglicerídeos. K<sub>1,0</sub>=K<sub>3,0</sub>= remoção direta do plasma. K<sub>1,2</sub>=K<sub>3,4</sub>= transformação em remanescente. K<sub>2,0</sub>=K<sub>4,0</sub>= remoção do remanescente. K<sub>5,0</sub>=remoção de ácido graxo livre. K<sub>3,5</sub>= formação de AGL a partir de quilomícrons. K<sub>4,5</sub>= formação de AGL a partir de remanescentes. Resultados em média e desvio padrão. Valores em min<sup>-1</sup>

#### 4.2. Efeitos do tratamento hipolipemiante sobre lípidos e apolipoproteínas:

O perfil lipídico e de apolipoproteínas plasmáticos após uso de drogas hipolipemiantes em dose baixa e após o tratamento medicamentoso otimizado encontram-se na tabela 4.

**Tabela 4-** Efeitos do tratamento hipolipemiante sobre lípidos e parâmetros de segurança

<i>Variável</i>	<i>Grupo 1 (N=13)</i>			<i>Grupo 2 (N=12)</i>			<i>P</i>
	<i>Basal</i>	<i>6 semanas</i>	<i>12 semanas</i>	<i>Basal</i>	<i>6 semanas</i>	<i>12 semanas</i>	
<b>CT</b>	222±24	193±21 <sup>x,y</sup>	152±21 <sup>y,z</sup>	215±33	168±18 <sup>x,y</sup>	144±24 <sup>y,z</sup>	<0,001
<b>HDL-C</b>	40±11	50±15	51±16	45±13	48±15	44±14	0,19
<b>LDL-C</b>	141±21	112±19 <sup>x,y</sup>	74±16 <sup>y,z</sup>	139±22	91±15 <sup>x,y</sup>	71±15 <sup>y,z</sup>	<0,001
<b>VLDL-C</b>	33±15	29±19	27±10 <sup>y</sup>	42±22	91±15	29±16 <sup>y</sup>	0,006
<b>TG</b>	165±80	164±84	134±54 <sup>y</sup>	213±112	136±91	149±81 <sup>y</sup>	0,007
<b>Apo B</b>	123±32	109±33	74±14 <sup>y,z</sup>	115±19	82±20 <sup>y</sup>	71±18 <sup>y</sup>	<0,001
<b>Apo A-I</b>	139±29	152±33	152±26 <sup>y</sup>	136±30	143±26	148±21 <sup>y</sup>	0,02
<b>Glicose</b>	93±9	97±8	99±7	102±11	97±10	95±14	0,91
<b>ALT</b>	24±11	30±19	30±16	20±4	20±7	18±8	0,40
<b>CPK</b>	164±86	149±71	169±95	119±52	129±83	131±97	0,74

Legendas: ALT=alanina aminotransferase; Apo A1=apolipoproteína A1; Apo B=apolipoproteína B; CT= colesterol total; CPK=creatinofosfoquinase; HDL-C: HDL colesterol; LDL-C: LDL colesterol; VLDL-C: VLDL colesterol; TG triglicerídeos. Resultados em média e desvio padrão. <sup>y</sup>=p em relação ao basal <0,05; <sup>x</sup>=p entre grupos na mesma avaliação <0,05; <sup>z</sup>=p 6 semanas em relação a 12 semanas <0,05. Parâmetros lipídicos em mg/dl. Parâmetros de segurança em UI/ml.

Em ambos os grupos houve redução do CT em relação ao basal após 6 e 12 semanas de tratamento (p<0,001). Houve queda de CT de 13% e de 22% após uso

---

respectivamente de ezetimiba 10mg e sinvastatina 20mg, havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p=0,047$ ). Após otimização terapêutica, em relação ao basal, o CT foi reduzido 31,5% após uso de sinvastatina 20mg e ezetimiba 10mg e 33% após uso de sinvastatina 80mg ( $p=0,93$  entre os grupos).

Em relação ao LDL-C, em ambos os grupos houve redução em relação ao basal após 6 e 12 semanas de tratamento ( $p<0,001$ ). Houve redução 20,5% e de 32,5% após uso de ezetimiba 10mg e sinvastatina 20mg respectivamente, havendo nesta avaliação diferença entre os grupos ( $p=0,048$ ). Na terceira avaliação, houve redução no LDL-C de 47,5% e 49% em relação ao basal após otimização terapêutica com sinvastatina 20mg+ezetimiba 10mg e sinvastatina 80mg respectivamente ( $p=0,99$  entre os grupos).

Não houve mudança entre os grupos e no decorrer do tempo em relação ao HDL-c ( $p>0,05$ ). Por outro lado, houve reduções no VLDL-C e TG no decorrer do tempo ( $p<0,05$ ), da primeira para a terceira avaliações ( $p=0,007$  em ambos) mas estas não diferiram entre os grupos ( $p>0,05$ ).

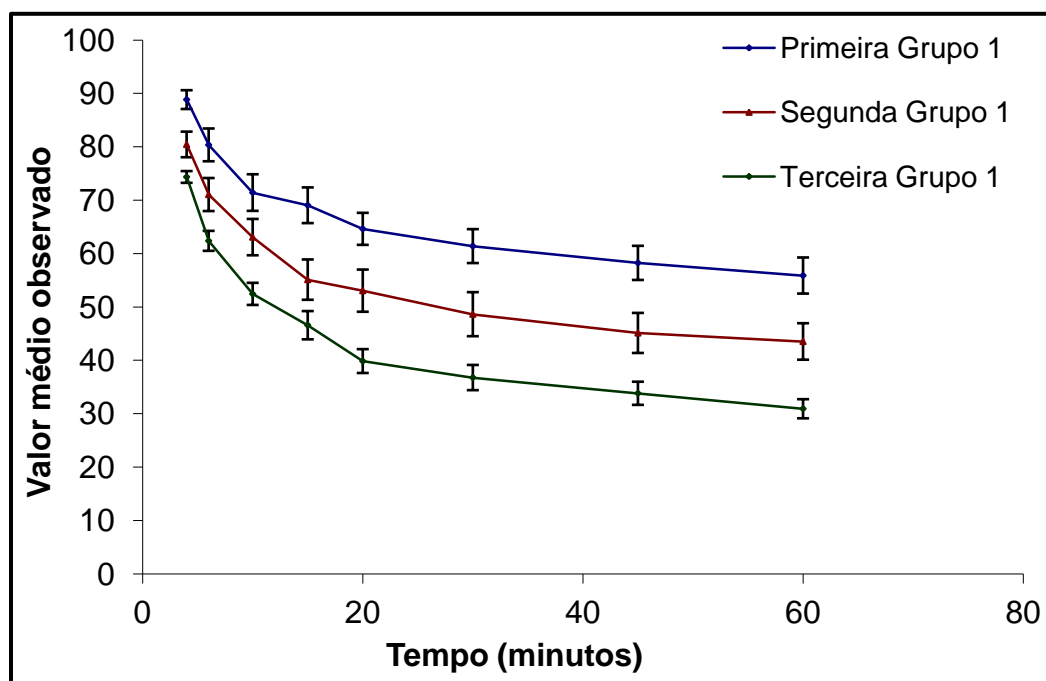
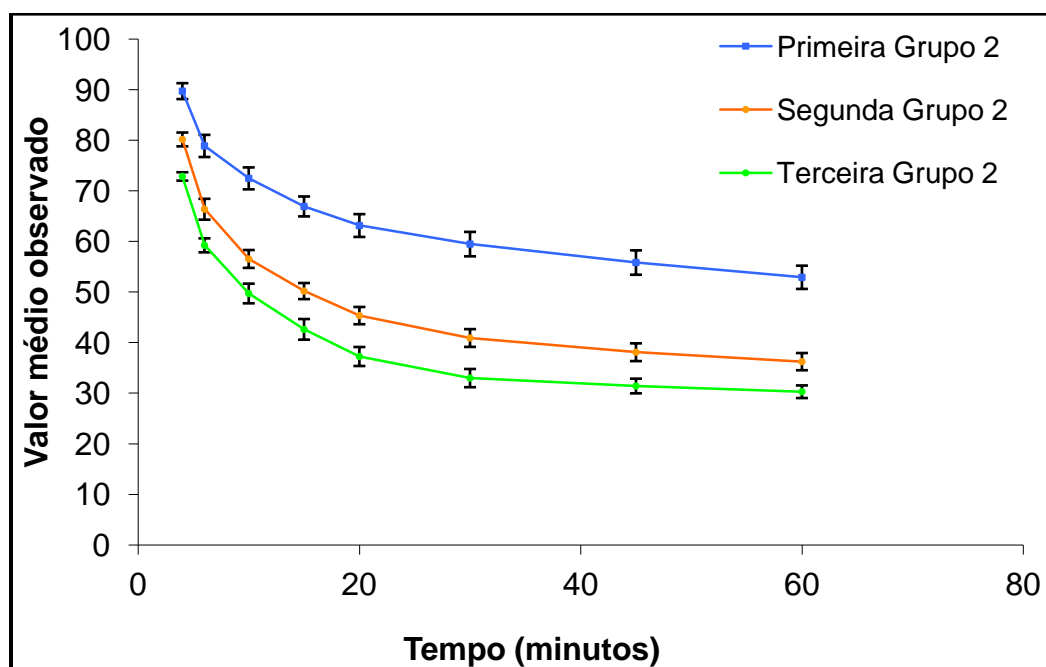
Em relação às concentrações de Apo B, houve diferença no comportamento desta variável entre os grupos no decorrer do tempo ( $p=0,004$ ). Ocorreu redução no grupo 2 do basal para segunda avaliação e desta para terceira ( $p<0,05$ ). Entretanto, não houve redução no grupo 1 quando se comparou o basal com a segunda avaliação ( $p=0,125$ ). Houve, por outro lado, diminuição da segunda para terceira avaliação ( $p<0,001$ ) e desta em relação ao estado basal ( $p<0,001$ ). Quanto à Apo A-I, existiu aumento na terceira avaliação em relação ao estado basal ( $p=0,02$ ), contudo esta não diferiu entre os grupos ao longo das avaliações ( $p=0,68$ ).

Não houve diferenças na concentração de glicose entre os grupos e no tempo. Quanto às variáveis de segurança (CPK e ALT), os grupos não diferiram do decorrer do tempo ( $p > 0,005$ ), sendo que não houve em qualquer momento diferenças em relação ao basal ( $p > 0,05$ ).

#### **4.3. Efeitos do tratamento hipolipemiante sobre a cinética de quilomícrons artificiais:**

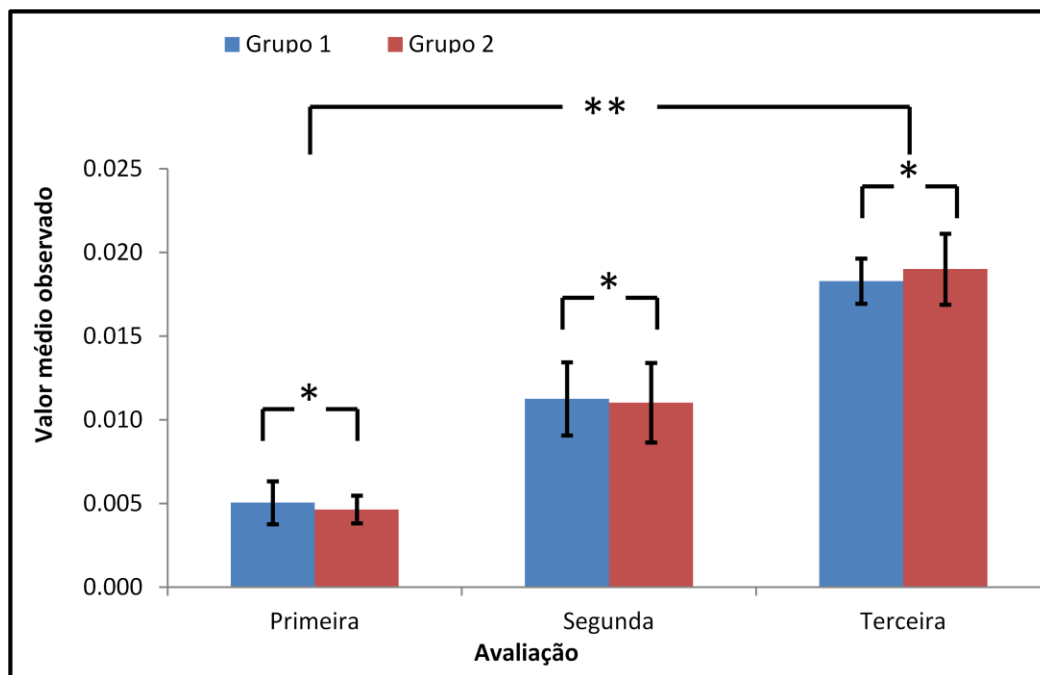
As curvas de decaimento foram construídas a partir da remoção percentual ao longo do tempo para os radiofármacos  $^{14}\text{C}$ -CE e  $^3\text{H}$ -TG. Foram feitas a partir da média e desvio padrão dos grupos em um determinado tempo (2, 4, 6, 10, 15, 20, 30, 45 e 60 minutos) (figuras 3, 4, 6 e 7). Os gráficos de ambas as curvas mostram aumento do percentual de remoção do colesterol ao longo do tempo em ambos os métodos e há diferença entre as avaliações, mas não existe diferença entre os grupos ( $p$  ANOVA  $< 0,001$ ).

As figuras 3 e 4 mostram, respectivamente, o decaimento do  $^{14}\text{C}$ -CE nos grupos 1 e 2 ao longo das avaliações. Foram encontradas diferenças significativas no comportamento das curvas de decaimento em ambos os grupos no decorrer das avaliações ( $p = 0,001$ ). Tanto no grupo 1 quanto no grupo 2 houve aceleração na curva de decaimento, quando comparados o basal com as avaliações 2 e 3 sucessivamente. Contudo não houve diferença significativa no comportamento dos grupos em relação às curvas de decaimento ( $p > 0,05$ ).

**Figura 3-** Curva percentual de cinética de  $^{14}\text{C}$ -CE no grupo 1**Figura 4-** Curva percentual de cinética de  $^{14}\text{C}$ -CE no grupo 02

Na figura 5, encontra-se o comportamento das taxas fracionais de remoção do  $^{14}\text{C}$ -CE nos grupos 1 e 2 ao longo do tempo. No grupo 1, a TFR-CE aumentou de  $0,0051\pm 0,0046\text{min}^{-1}$  para  $0,0113\pm 0,0079\text{min}^{-1}$  na segunda avaliação e para  $0,0183\pm 0,0049\text{min}^{-1}$  na terceira avaliação, enquanto que no grupo 02, a TFR-CE aumentou de  $0,0046\pm 0,0029\text{min}^{-1}$  para  $0,011\pm 0,0082\text{min}^{-1}$  na segunda e  $0,019\pm 0,0073\text{min}^{-1}$  na terceira avaliação. Em relação às comparações múltiplas para TFR-CE, houve aumento significativo do basal para as avaliações 2 e 3 sucessivamente em ambos os grupos ( $p < 0,001$ ), sem contudo haver diferença entre eles no decorrer das avaliações ( $p = 0,942$ ).

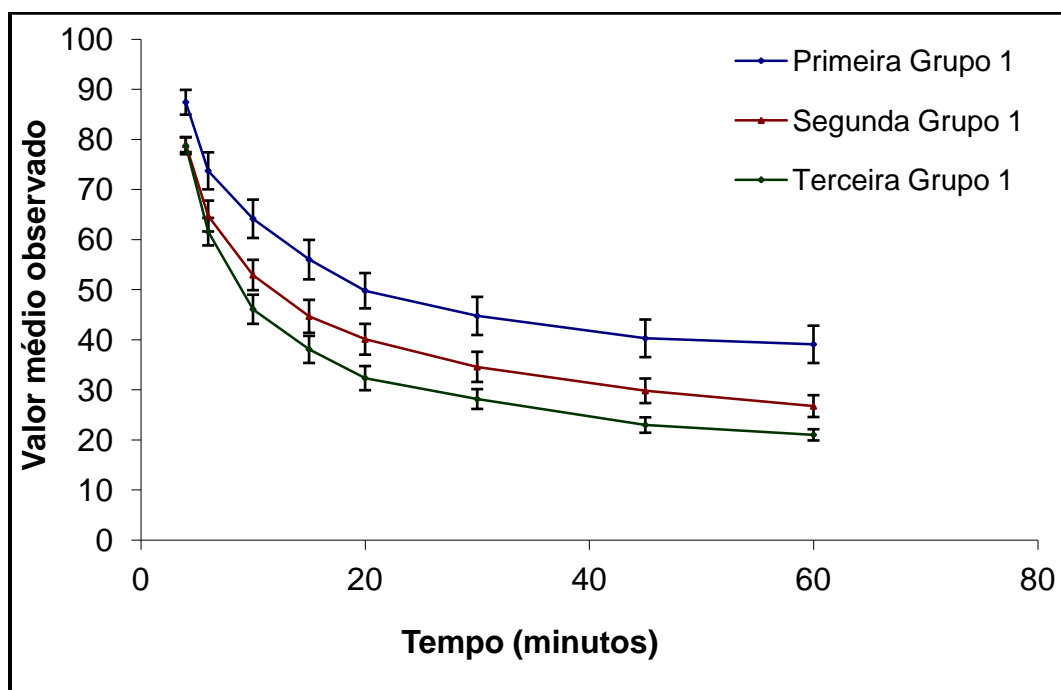
**Figura 5-** Evolução de TFR-CE ao longo das 3 avaliações.

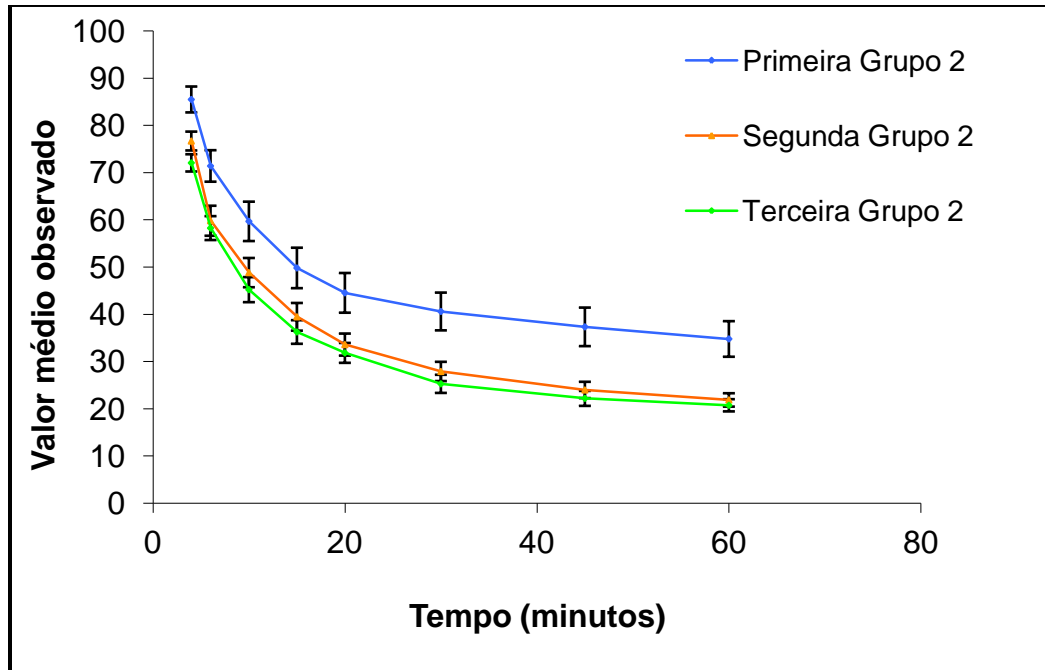


Legenda: \*p entre grupos  $> 0,05$ ; \*\*p ANOVA  $< 0,001$ . Valores em  $\text{min}^{-1}$

As figuras 6 e 7 mostram, respectivamente, o decaimento do  $^3\text{H-TG}$  nos grupos 1 e 2 ao longo das avaliações. Foram encontradas diferenças significativas no comportamento das curvas de decaimento em ambos os grupos no decorrer das avaliações ( $p < 0,001$ ). Tanto no grupo 1 quanto no grupo 2 houve aceleração na curva de decaimento, quando comparados o basal com as avaliações 2 e 3 sucessivamente. Contudo os grupos não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ).

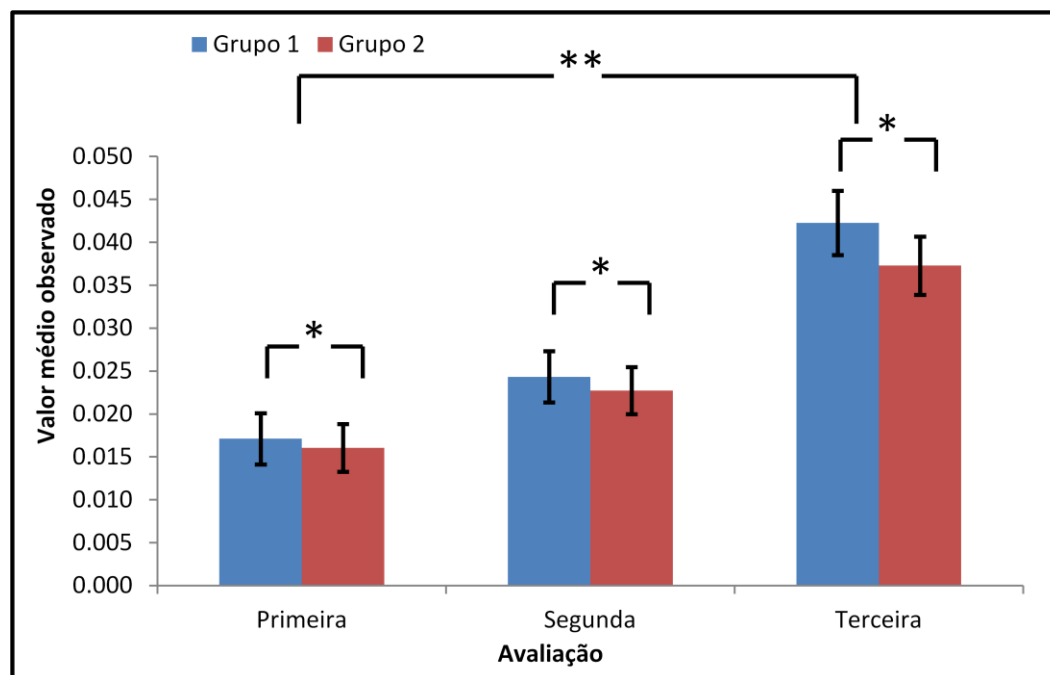
**Figura 6-** Curva percentual de cinética de  $^3\text{H-TG}$  no grupo 1



**Figura 7-** Curva percentual de cinética de  $^3\text{H-TG}$  no grupo 2

Na figura 8, encontra-se o comportamento das taxas fracionais de remoção do  $^3\text{H-TG}$  nos grupos 1 e 2 ao longo do tempo. No grupo 1, a TFR-TG aumentou de  $0,0171 \pm 0,0108$  na primeira avaliação para  $0,0243 \pm 0,0108$  na segunda e  $0,0423 \pm 0,0135$  na terceira avaliação, enquanto no grupo 2 a progressão foi de  $0,0161 \pm 0,0096$  na primeira para  $0,0227 \pm 0,0095$  na segunda e  $0,0373 \pm 0,0118$  na terceira avaliação. De maneira semelhante às comparações múltiplas para TFR-CE, em relação à TFR-TG, houve aumento do basal para as avaliações 2 e 3 sucessivamente em ambos os grupos ( $p < 0,001$ ), sem contudo haver diferença entre eles no decorrer das avaliações ( $p = 0,81$ ).



**Figura 8-** Evolução de TFR-TG ao longo das 3 avaliações.

Legenda: \* p entre grupos >0,05. \*\* p ANOVA <0,001. Valores em min<sup>-1</sup>

#### 4.4. Análise compartimental nos grupos 1 e 2 ao longo das 3 avaliações:

Os efeitos dos diferentes esquemas medicamentosos usados em ambos os grupos no metabolismo da emulsão lipídica semelhante a quilomícrons foram avaliados por análise compartimental de acordo com modificação do modelo proposto por Redgrave e Zech<sup>32, 35</sup>, conforme já descrito previamente. Os valores das taxas de transferência ( $K_{x,y}$ ) pré-tratamento nos grupos 1 e 2 estão descritos na tabela 3. Não havia diferença significativa em nenhum dos ( $K_{x,y}$ ) entre os grupos pré-tratamento.

**Tabela 5-** Evolução de parâmetros de análise compartimental nos grupos 1 e 2.

<i>Variavel</i>	<i>Grupo 1</i>			<i>Grupo 2</i>			<i>P</i>
	<i>Basal</i>	<i>6 sem</i>	<i>12 sem</i>	<i>Basal</i>	<i>6 sem</i>	<i>12 sem</i>	
<b>K<sub>1,0</sub>=K<sub>3,0</sub></b>	0,1±0,09	0,14±0,10	0,17±0,065 <sup>y</sup>	0,095±0,053	0,14 ± 0,05	0,17 ± 0,05 <sup>y</sup>	0,001
<b>K<sub>2,0</sub>=K<sub>4,0</sub></b>	0,004±0,004	0,01±0,005 <sup>y</sup>	0,018±0,01 <sup>y,z</sup>	0,003±0,002	0,01 ± 0,004 <sup>y</sup>	0,014±0,005 <sup>y,z</sup>	<0,001
<b>K<sub>5,0</sub></b>	0,46±0,36	0,28±0,07	0,21±0,133 <sup>y</sup>	0,432±0,45	0,28±0,25	0,153±0,07 <sup>y</sup>	0,003
<b>K<sub>1,2</sub>=K<sub>3,4</sub></b>	0,14±0,125	0,10±0,06	0,067±0,03 <sup>y</sup>	0,093±0,047	0,07±0,034	0,06±0,025 <sup>y</sup>	0,003
<b>K<sub>3,5</sub></b>	0,1±0,094	0,08±0,063	0,076±0,05 <sup>y</sup>	0,115±0,03	0,09±0,038	0,051±0,03 <sup>y</sup>	0,017
<b>K<sub>4,5</sub></b>	0,02±0,009	0,013±0,02	0,012±0,02	0,016±0,007	0,015±0,022	0,012±0,023	0,43

legenda: **y**=p em relação ao basal <0,05; **z**=p 6 semanas em relação a 12 semanas <0,05. K<sub>1,0</sub>=K<sub>3,0</sub>= remoção direta do plasma. K<sub>1,2</sub>=K<sub>3,4</sub>= transformação em remanescente. K<sub>2,0</sub>=K<sub>4,0</sub>= remoção do remanescente. K<sub>5,0</sub>=remoção de ácido graxo livre. K<sub>3,5</sub>= formação de AGL a partir de quilomicrons. K<sub>4,5</sub>= formação de AGL a partir de remanescentes. Resultados em média e desvio padrão. Valores em min<sup>-1</sup>

Não houve diferença no comportamento das constantes de transferência (K<sub>x,y</sub>) entre os grupos nas 3 avaliações (p>0,05). Notam-se variações significativas de K<sub>1,0</sub>=K<sub>3,0</sub>, K<sub>5,0</sub>, K<sub>1,2</sub>=K<sub>3,4</sub> e K<sub>3,5</sub> da primeira para a terceira avaliação em ambos os grupos (p<0,05). Encontrou-se também aumento do basal para a segunda e da segunda para a terceira avaliações no K<sub>2,0</sub>=K<sub>4,0</sub> em ambos os grupos (p<0,001), havendo no grupo 1 variação de 63,63% e 38,88% e no grupo 2 variação de 66,67% e 35,71% entre a primeira-segunda e segunda-terceira avaliações, sugerindo que o impacto dos tratamentos ocorreu principalmente no componente lento de remoção dos radioisótopos do plasma.

## **5- DISCUSSÃO**

Os resultados do presente estudo trazem à discussão aspectos interessantes da terapia hipolipemiante com estatinas e ezetimiba, seja esta de forma isolada ou em associação. A ezetimiba, um inibidor intestinal de absorção do colesterol, em monoterapia ou terapia combinada com a sinvastatina, modificou favoravelmente o perfil lipídico e a cinética de quilomícrons artificiais em portadores de DAC estável.

### **5.1. Efeitos sobre o perfil lipídico e apolipoproteína B:**

Em monoterapia, a sinvastatina 20mg reduziu de forma mais intensa que a ezetimiba as concentrações de LDL-C e Apo B em relação ao período basal. Já a associação de ezetimiba 10mg com sinvastatina 20mg levou a reduções mais importantes de LDL-C e Apo B em relação à segunda avaliação, contudo esses efeitos foram similares em intensidade à dosagem de sinvastatina 80mg. Em relação aos triglicérides plasmáticos, apenas a associação de sinvastatina e ezetimiba e a dose alta de sinvastatina levaram à sua queda significativa. Nossos dados confirmam estudos prévios mostrando o impacto da ezetimiba, associada ou não à sinvastatina, sobre o perfil lipídico e de apolipoproteínas<sup>19, 22</sup>.

Quando consideramos dados originários deste e de estudos realizados previamente, a associação ezetimiba 10mg e sinvastatina 20mg mostra-se similar à dose máxima desta última para tratamento da hipercolesterolemia<sup>27</sup>. Considerando-se apenas os efeitos sobre o perfil lipídico e a aparente boa tolerabilidade da associação<sup>36</sup>, esta se mostra uma alternativa às doses

elevadas de sinvastatina. De fato, recentemente, o FDA (Food and Drug Administration) dos EUA posicionou-se contra a utilização da dose de 80mg de sinvastatina devido ao maior risco de efeitos colaterais musculares quando comparado a doses menores e às outras estatinas. Outro achado importante que sugere a eficácia da associação de ezetimiba e sinvastatina para a prevenção da aterosclerose vem da recente publicação do estudo SHARP<sup>36</sup>. Neste estudo, realizado em 9.270 portadores de insuficiência renal terminal, a associação de 20mg de sinvastatina com 10mg de ezetimiba, dose similar à testada em nosso estudo, reduziu significativamente a incidência de eventos ateroscleróticos maiores, quando comparado ao placebo ( $p=0,0021$ ). O tratamento farmacológico levou a 17% de redução relativa (IC 95% 0,74-0,94) nestes eventos, sendo esta queda proporcional à diferença de 32mg/dL no LDL-C encontrada entre os grupos. Os resultados estiveram de acordo com metanálise do Cholesterol Treatment Trialists (CTT), em que para cada 40mg/dL de queda do LDL-C há redução relativa dos eventos ateroscleróticos maiores em 22%<sup>16</sup>. Já estudo IMPROVE-IT, ainda em andamento, avalia a eficácia da associação de ezetimiba e sinvastatina contra o uso isolado desta última para prevenção dos eventos cardiovasculares, após síndromes coronárias agudas<sup>37</sup>.

## **5.2. Efeitos sobre a cinética de quilomícrons artificiais:**

Neste estudo, tanto o uso isolado da ezetimiba quanto sua associação com sinvastatina levaram a aumento progressivo da remoção plasmática dos quilomícrons artificiais em portadores de DAC. Este efeito foi demonstrado

---

tanto pela análise da curva de decaimento dos radioisótopos no plasma como pelo estudo da TFR do  $^{14}\text{C}$ -CE e  $^3\text{H}$ -TG. Não houve diferença nos parâmetros cinéticos da emulsão quando comparada ezetimiba de forma isolada com a dose de 20mg de sinvastatina. Da mesma forma, os parâmetros cinéticos não diferiram de forma significativa quando se associou ezetimiba com sinvastatina, em relação à dose de 80mg desta última. É importante enfatizar que ambas as estratégias terapêuticas aumentaram a remoção plasmática da emulsão quando comparadas ao período basal. De maneira semelhante, a otimização terapêutica com qualquer uma das estratégias utilizadas incrementou de forma similar e significativa os efeitos iniciais.

O estudo dos parâmetros do modelo compartimental adotado nos permite inferir sobre os locais de ação e sobre as modificações no metabolismo dos quilomícrons induzidos pelos medicamentos estudados nas diversas fases do protocolo experimental. Tanto na segunda como na terceira avaliação, ou seja, uso isolado dos medicamentos ou terapia otimizada, encontramos aumento significativo nos  $K_{2,0}=K_{4,0}$ , que representam a fase lenta de remoção dos quilomícrons pelo fígado. Esse achado poderia ser explicado pelo aumento da expressão dos receptores hepáticos da LDL induzida por ambas sinvastatina e ezetimiba.

Classicamente, a inibição da HMGCo-A redutase pelas estatinas leva à diminuição da concentração intra-hepática de colesterol, fato que induz maior expressão do receptor da LDL, como mostrado previamente<sup>38</sup>. Já a ezetimiba agiria de forma indireta sobre os receptores da LDL no fígado. Por agir no receptor NPC1L1 intestinal, este medicamento, ao reduzir a absorção do colesterol, diminui a concentração do mesmo transportada pelos quilomícrons e

---

remanescentes<sup>24</sup>. Embora a menor oferta ao fígado de colesterol possa estimular sua produção intra-hepática, como demonstrado pelo aumento dos níveis de latosterol plasmático, um marcador de síntese de colesterol<sup>39</sup>, há evidência que a ezetimiba de forma isolada aumenta as TFR de VLDL, IDL e LDL<sup>25</sup>, sugerindo aumento da expressão e da atividade do receptor hepático da LDL. Estudos em animais mostram que, embora possa haver aumento da síntese de colesterol intra-hepático, o *pool* de colesterol no fígado encontra-se diminuído<sup>40</sup>. De fato, já foi demonstrado um aumento de 70% no RNA-m do receptor de LDL com uso isolado da ezetimiba e de 240% quando esta foi associada à sinvastatina, nos hepatócitos de porcos-miniatura<sup>40</sup>.

Entretanto, dados oriundos de estudos no Homem ainda colocam alguma controvérsia sobre o papel da ezetimiba, isolada ou associada à estatina, sobre a expressão do receptor de LDL. Recentemente, Gouni-Bertoldi *et al.* avaliaram os efeitos de sinvastatina e ezetimiba isoladas ou em associação sobre a expressão gênica e da proteína do receptor da LDL em células mononucleares do Homem<sup>41</sup>. Após 14 dias de tratamento com esses medicamentos, os autores demonstraram que, isoladamente, a ezetimiba, apesar de reduzir o LDL-C plasmático, não aumentou a expressão dos receptores de LDL na superfície das células mononucleares. Já a sinvastatina, isolada ou associada com ezetimiba, aumentou a expressão do gene do receptor de LDL. Contudo, nem estatina e tampouco sua associação com ezetimiba aumentaram a concentração de proteína do receptor da LDL nas células mononucleares. Apesar destes resultados, é importante enfatizar que este modelo de células mononucleares, embora utilizado para avaliar o comportamento de genes e proteínas que regulam o metabolismo de

---

colesterol, pode não corresponder de forma precisa ao que ocorre no fígado. De fato, Tremblay *et al.* demonstraram, em estudo cinético realizado em humanos, aumento da TFR das lipoproteínas que contêm Apo B-100 pelo fígado quando foi utilizada a ezetimiba<sup>26</sup>. Nossos dados corroboram esses achados, já que a emulsão utilizada em nosso estudo apresenta grande afinidade pelo receptor da LDL, devido a seu tamanho (150-200nm), e por ser rica em Apo E, conforme demonstrado em estudo experimental<sup>42</sup>. Da mesma forma, foi demonstrada relação inversa entre as concentrações de LDL-C e Apo B-100, marcadores indiretos da função do receptor da LDL, e TFR do <sup>14</sup>C-CE no Homem<sup>10</sup>.

De forma interessante, encontramos que, com a terapia otimizada, houve aumento significativo não apenas do  $K_{2,0}=K_{4,0}$  mas também do  $K_{1,0}=K_{3,0}$ . Esses achados sugerem que, com a intensa ação da dose de 80mg de sinvastatina e/ou a ação dos medicamentos associados, possa ter havido aumento também da fase rápida de remoção da emulsão. É importante enfatizar que, embora na fase rápida predomine a remoção inespecífica, não podemos negligenciar a participação do fígado nessa fase de remoção das partículas. Como também houve redução das concentrações de Apo B-100 e triglicérides na terceira avaliação, marcadoras indiretas da presença de lipoproteínas ricas em triglicérides de origem hepática, podemos sugerir também menor competição das emulsões com VLDL-C e remanescentes por mecanismos comuns de remoção.

Com a terapia otimizada, houve também diminuição de  $K_{1,2}=K_{3,4}$  que representam a transformação dos quilomícrons em remanescentes. Esse mecanismo é dependente do tempo de exposição da emulsão principalmente à



---

LPL. Como houve aumento de  $K_{1,0}=K_{3,0}$ , isso significou saída da emulsão do plasma antes de ser exposta a LPL. De fato, no geral houve uma grande aceleração da remoção das partículas injetadas, expresso pelo aumento tanto da TFR do  $^{14}\text{CE}$  como do  $^3\text{HTG}$ . Finalmente, um menor tempo de permanência da emulsão no plasma e conseqüente menor exposição à LPL poderiam justificar a diminuição dos  $K_{3,5}$  e  $K_{5,0}$  que, respectivamente, representam geração e remoção de ácidos graxos livres do compartimento plasmático.

### 5.3. Possíveis implicações terapêuticas:

Além da clássica associação de concentrações elevadas do LDL-C e Apo B-100 com o risco de eventos coronários<sup>43</sup>, vários estudos mostraram que alterações no metabolismo dos quilomícrons e remanescentes predisõem ao desenvolvimento da aterosclerose<sup>1, 2, 7</sup>. Mais especificamente, Maranhão *et al.* e Sposito *et al.* mostraram associação entre diminuição das TFR dos quilomícrons artificiais similares aos utilizados em nosso estudo, respectivamente, com a presença e gravidade da doença coronária anatômica<sup>5, 7</sup> e com a incidência de eventos clínicos em portadores de DAC<sup>6</sup>.

É claramente demonstrado que o principal efeito farmacológico das estatinas para prevenção da aterosclerose decorre da redução das concentrações do LDL-C no plasma<sup>16</sup>. Contudo, estes medicamentos também exercem efeitos sobre o metabolismo dos quilomícrons e seus remanescentes. Estudos prévios demonstraram que, além de modificar favoravelmente o perfil lipídico e de apolipoproteínas, as estatinas aumentam a remoção plasmática dos quilomícrons artificiais em uma maneira dose-dependente em portadores

---

de DAC e/ou dislipidemia aterogênica<sup>12, 13</sup>. Portanto, é lícito acreditar que as estatinas exerçam seus efeitos benéficos no processo aterosclerótico também por aumentar a remoção plasmática das lipoproteínas que contêm apo B-48, adicionalmente à redução plasmática das lipoproteínas que contêm Apo B-100.

Nossos dados mostram que, além de reduzir o colesterol e Apo B, ambas sinvastatina 20mg e ezetimiba 10mg aumentaram de forma similar a remoção plasmática dos quilomícrons artificiais. Este estudo confirma os efeitos descritos previamente com pravastatina e atorvastatina sobre a cinética da emulsão<sup>12, 13</sup>. O estudo demonstra também que a ezetimiba 10mg exerce efeitos similares aos da sinvastatina 20mg sobre a cinética.

A otimização terapêutica, tanto com sinvastatina 80mg quanto com associação de ezetimiba 10mg e sinvastatina 20mg, potencializou os efeitos sobre lípidos e apolipoproteínas, como descrito previamente. De forma similar ao estudo realizado com atorvastatina por Sposito *et al.*<sup>12</sup>, a titulação da dose de sinvastatina para 80mg aumentou de forma mais intensa a remoção plasmática da emulsão. Quando comparada ao estado basal, em média a remoção do remanescente representado pela TFR do <sup>14</sup>C-CE aumentou em 3,7 vezes.

De forma inédita, demonstramos que, por sua vez, a ezetimiba, além de aumentar em uso isolado a TFR da emulsão, potencializou de forma importante os efeitos da sinvastatina 20mg em remover os remanescentes de quilomícrons. Houve, com a combinação das drogas, aumento em cerca de 2,6 vezes ( $p=n.s.$  vs. sinvastatina 80mg) em relação ao estado basal. Logo, a ezetimiba, além de exercer efeitos favoráveis no perfil lipídico e cinética dos quilomícrons artificiais por si só, intensifica os efeitos da sinvastatina sobre esses parâmetros.

Portanto, nossos dados podem ajudar a explicar os resultados favoráveis dos estudos que mostraram redução de eventos cardiovasculares com o uso isolado de sinvastatina ou quando esta foi associada à ezetimiba. É importante esclarecer que no estudo 4S metade dos pacientes incluídos utilizou a dose de 20mg de sinvastatina<sup>17</sup>, e no estudo SHARP esta dose foi associada a 10mg de ezetimiba<sup>36</sup>. Os efeitos da associação ezetimiba sinvastatina estão sendo comparados com o uso isolado desta última no estudo IMPROVE-IT<sup>37</sup>

## **6- LIMITAÇÕES**

Este presente estudo foi conduzido em pacientes com doença arterial coronariana em seguimento clínico em ambulatório de coronariopatia crônica do Instituto do Coração (InCor – HCFMUSP). Os pacientes foram seguidos por um período total de 12 semanas, após 6 semanas de suspensão de fármaco hipolipemiante. O efeito de longo prazo destes esquemas terapêuticos sobre a cinética de quilomícrons artificiais não foi testado. Embora houvesse na amostra vários pacientes com diagnóstico de síndrome metabólica, foram excluídos pacientes com diabetes melito, não cabendo portanto conclusões a respeito dessa população.

Também vale salientar que, embora a distribuição tenha sido feita de maneira randômica, os pacientes não eram cegos quanto à droga em uso nem a equipe quanto ao tratamento que estava sendo administrado. Contudo, a análise estatística foi realizada de maneira cega.

Por último, trata-se de um estudo de avaliação de desfecho substituto de doença aterosclerótica. Vários estudos foram realizados mostrando diferença entre a remoção de quilomícrons artificiais em indivíduos com DAC em relação a população normal<sup>5, 7</sup>, bem como diferenças entre indivíduos com gravidade da doença distintas<sup>6</sup>. Também já foi demonstrado o efeito do uso de estatina sobre essa remoção. Porém, apesar dos benefícios demonstrados, não se trata de um estudo de desfecho clínico.

## **7- CONCLUSÕES**

- 1- A ezetimiba acelerou a remoção de quilomícrons artificiais, tanto de  $^{14}\text{C}$ -CE quanto de  $^3\text{H}$ -TG de forma similar à dose de 20mg de sinvastatina.
- 2- A associação de sinvastatina 20mg e ezetimiba 10mg teve efeito adicional e similar à dose de 80mg da estatina sobre a remoção de quilomícrons artificiais.

## **8- ANEXOS**



**ANEXO A. Tabelas completas com resultados estatísticos e de comparação de medidas repetidas (ANOVA) entre os grupos 01 e 02 ao longo das 03 avaliações:**

**Tabela A1-** Resultado das ANOVAs para as medidas laboratoriais.

Variável	Fator	GL num.	GL den.	Valor F	p
ALT	Grupo	1	23	4,07	0,055
	Avaliação	2	23	0,94	0,406
	Grupo*Avaliação	2	23	2,10	0,146
Apo A1	Grupo	1	23	0,31	0,582
	Avaliação	2	23	4,41	<b>0,024</b>
	Grupo*Avaliação	2	23	0,39	0,684
Apo B	Grupo	1	23	2,43	0,133
	Avaliação	2	23	51,43	<b>&lt;0,001</b>
	Grupo*Avaliação	2	23	7,19	<b>0,004</b>
CT	Grupo	1	23	3,16	0,089
	Avaliação	2	23	77,14	<b>&lt;0,001</b>
	Grupo*Avaliação	2	23	3,62	<b>0,043</b>
CK	Grupo	1	23	1,54	0,227
	Avaliação	2	23	0,30	0,743
	Grupo*Avaliação	2	23	0,48	0,625
Glicose	Grupo	1	23	0,30	0,590
	Avaliação	2	23	0,09	0,911
	Grupo*Avaliação	2	23	4,21	<b>0,028</b>
HDL-C	Grupo	1	23	0,54	0,469
	Avaliação	2	23	1,78	0,191
	Grupo*Avaliação	2	23	2,85	0,078
LDL-C	Grupo	1	23	2,24	0,148
	Avaliação	2	23	123,75	<b>&lt;0,001</b>
	Grupo*Avaliação	2	23	8,67	<b>0,002</b>
VLDL-C	Grupo	1	23	1,15	0,296
	Avaliação	2	23	6,55	<b>0,006</b>
	Grupo*Avaliação	2	23	0,76	0,481
TG	Grupo	1	23	0,17	0,680
	Avaliação	2	23	6,18	<b>0,007</b>
	Grupo*Avaliação	2	23	2,53	0,101
TFR-CE	Grupo	1	23	0,00	0,986
	Avaliação	2	23	39,39	<b>&lt;0,001</b>
	Grupo*Avaliação	2	23	0,06	0,942
TFR-TG	Grupo	1	23	1,04	0,319
	Avaliação	2	23	24,26	<b>&lt;0,001</b>
	Grupo*Avaliação	2	23	0,20	0,819

A Tabela A1 mostra que as medidas de ALT, CK e HDL-C não diferem estatisticamente entre os grupos ou há alteração ao longo das avaliações ( $p>0,05$ ). Apo A1, VLDL-C, TG, TFR-CE e TFR-TG diferem em média estatisticamente ao longo das avaliações ( $p<0,05$ ), mas não diferem entre os grupos ( $p>0,05$ ). Já as medidas Apo B, CT, glicose e LDL-C apresentam comportamento dos grupos em média estatisticamente diferente ao longo das avaliações ( $p=0,004$ ,  $p=0,028$  e  $p=0,002$  respectivamente)

**Tabela A2-** Resultado das comparações múltiplas para Apo A1.

Comparação (Avaliação)	Diferença Média estimada	Erro Padrão	Valor t	GL	p
Primeira - Segunda	-10,46	4,41	-2,37	24	0,065
Primeira - Terceira	-12,64	4,33	-2,92	24	<b>0,020</b>
Segunda - Terceira	-2,18	3,60	-0,61	24	0,818

A Tabela A2 mostra que o valor médio de Apo A1 na terceira avaliação é em média estatisticamente maior que na primeira avaliação ( $p=0,020$ ) independente do grupo.

**Tabela A3-** Resultado das comparações múltiplas para Apo B.

Comparação (Grupo/Avaliação)	Diferença Média estimada	Erro Padrão	Valor t	GL	P
Grupo 1 Primeira - Grupo 1 Segunda	13,68	5,16	2,65	23	0,125
Grupo 1 Primeira - Grupo 1 Terceira	49,51	6,39	7,75	23	<b>&lt;0,001</b>
Grupo 1 Primeira - Grupo 2 Primeira	7,93	10,50	0,76	23	0,972
Grupo 1 Segunda - Grupo 1 Terceira	35,82	5,29	6,77	23	<b>&lt;0,001</b>
Grupo 1 Segunda - Grupo 2 Segunda	27,61	10,66	2,59	23	0,140
Grupo 1 Terceira - Grupo 2 Terceira	2,39	6,31	0,38	23	0,999
Grupo 2 Primeira - Grupo 2 Segunda	33,37	5,37	6,21	23	<b>&lt;0,001</b>
Grupo 2 Primeira - Grupo 2 Terceira	43,98	6,65	6,61	23	<b>&lt;0,001</b>
Grupo 2 Segunda - Grupo 2 Terceira	10,61	5,51	1,93	23	0,413

Pela Tabela A3, tem-se que a Apo B do grupo 1 não difere em média do grupo 2 em nenhum momento específico ( $p>0,05$ ), porém ao longo das avaliações o grupo 1 apresenta em média valor menor de Apo B apenas na terceira avaliação em relação à primeira avaliação ( $p<0,001$ ), enquanto que o grupo 2 apresenta uma queda mais acentuada de Apo B, sendo que na segunda avaliação já se observa uma diferença média estatisticamente significativa com relação à primeira avaliação ( $p<0,001$ ) que se mantém na terceira avaliação ( $p<0,001$ )

**Tabela A4-** Resultado das comparações múltiplas para CT.

Comparação (Grupo/Avaliação)	Diferença Média estimada	Erro Padrão	Valor t	GL	P
Grupo 1 Primeira - Grupo 1 Segunda	29,38	6,80	4,32	23	<b>0,003</b>
Grupo 1 Primeira - Grupo 1 Terceira	69,62	8,02	8,68	23	<b>&lt;0,001</b>
Grupo 1 Primeira - Grupo 2 Primeira	7,21	11,13	0,65	23	0,986
Grupo 1 Segunda - Grupo 1 Terceira	40,23	5,07	7,94	23	<b>&lt;0,001</b>
Grupo 1 Segunda - Grupo 2 Segunda	24,57	7,85	3,13	23	<b>0,047</b>
Grupo 1 Terceira - Grupo 2 Terceira	8,39	8,91	0,94	23	0,931
Grupo 2 Primeira - Grupo 2 Segunda	46,75	7,08	6,60	23	<b>&lt;0,001</b>
Grupo 2 Primeira - Grupo 2 Terceira	70,80	8,35	8,48	23	<b>&lt;0,001</b>
Grupo 2 Segunda - Grupo 2 Terceira	24,05	5,28	4,56	23	<b>0,002</b>

A Tabela A4 mostra que o CT difere em média estatisticamente entre os grupos apenas na segunda avaliação ( $p=0,047$ ), sendo maior no grupo 1. O grupo 1 apresenta redução média estatisticamente significativa entre as avaliações apenas da primeira para as demais ( $p<0,05$ ), já o grupo 2 apresenta redução média do CT em todas as avaliações ( $p<0,05$ ).

**Tabela A5-** Resultado das comparações múltiplas para glicose.

Comparação (Grupo/Avaliação)	Diferença Média estimada	Erro Padrão	Valor t	GL	P
Grupo 1 Primeira - Grupo 1 Segunda	-3,62	2,79	-1,29	23	0,785
Grupo 1 Primeira - Grupo 1 Terceira	-5,54	3,53	-1,57	23	0,627
Grupo 1 Primeira - Grupo 2 Primeira	-8,71	3,99	-2,18	23	0,284
Grupo 1 Segunda - Grupo 1 Terceira	-1,92	3,80	-0,51	23	0,995
Grupo 1 Segunda - Grupo 2 Segunda	0,08	3,79	0,02	23	1,000
Grupo 1 Terceira - Grupo 2 Terceira	3,92	4,31	0,91	23	0,940
Grupo 2 Primeira - Grupo 2 Segunda	5,17	2,91	1,78	23	0,499
Grupo 2 Primeira - Grupo 2 Terceira	7,08	3,68	1,93	23	0,412
Grupo 2 Segunda - Grupo 2 Terceira	1,92	3,96	0,48	23	0,996

Pela Tabela A5, tem-se que apesar do comportamento médio da glicose entre os grupos ao longo das avaliações ser estatisticamente diferente ( $p=0,028$ ), não é possível identificar diferenças médias estatisticamente significativas entre os grupos ou avaliações nos níveis médios de glicose ( $p>0,05$ ). O resultado parece ter ocorrido devido à diferença aparente entre os grupos na primeira avaliação.

**Tabela A6-** Resultado das comparações múltiplas para LDL-C

Comparação (Grupo/Avaliação)	Diferença Média estimada	Erro Padrão	Valor t	GL	P
Grupo 1 Primeira - Grupo 1 Segunda	29,08	4,98	5,84	23	<b>&lt;0,001</b>
Grupo 1 Primeira - Grupo 1 Terceira	67,00	6,01	11,15	23	<b>&lt;0,001</b>
Grupo 1 Primeira - Grupo 2 Primeira	2,43	8,46	0,29	23	1,000
Grupo 1 Segunda - Grupo 1 Terceira	37,92	3,67	10,33	23	<b>&lt;0,001</b>
Grupo 1 Segunda - Grupo 2 Segunda	21,02	6,74	3,12	23	<b>0,048</b>
Grupo 1 Terceira - Grupo 2 Terceira	2,93	6,18	0,47	23	0,997
Grupo 2 Primeira - Grupo 2 Segunda	47,67	5,19	9,19	23	<b>&lt;0,001</b>
Grupo 2 Primeira - Grupo 2 Terceira	67,50	6,25	10,79	23	<b>&lt;0,001</b>
Grupo 2 Segunda - Grupo 2 Terceira	19,83	3,82	5,19	23	<b>&lt;0,001</b>

A Tabela A6 mostra que o LDL-C médio difere estatisticamente entre os grupos apenas na segunda avaliação ( $p=0,048$ ), sendo maior no grupo 1. O grupo 1 apresenta redução média estatisticamente significativa entre as avaliações apenas da primeira para as demais ( $p<0,05$ ), já o grupo 2 apresenta redução média do LDL-C em todas as avaliações ( $p<0,05$ ).

**Tabela A7-** Resultado das comparações múltiplas para VLDL-C

Comparação (Avaliação)	Diferença Média estimada	Erro Padrão	Valor t	GL	p
Primeira - Segunda	5,68	4,54	1,25	24	0,436
Primeira - Terceira	9,21	2,76	3,34	24	<b>0,007</b>
Segunda - Terceira	3,53	3,63	0,97	24	0,601

Pela Tabela A7, tem-se que o VLDL-C médio é estatisticamente maior na primeira avaliação em relação à terceira avaliação ( $p=0,007$ ) independente do grupo.

**Tabela A8-** Resultado das comparações múltiplas para TG.

Comparação (Avaliação)	Diferença Média estimada	Erro Padrão	Valor t	GL	p
Primeira - Segunda	37,44	18,98	1,97	24	0,141
Primeira - Terceira	46,52	13,93	3,34	24	<b>0,007</b>
Segunda - Terceira	9,08	12,75	0,71	24	0,759

A Tabela A8 mostra que o TG médio é estatisticamente maior na primeira avaliação em relação à terceira avaliação ( $p=0,007$ ) independente do grupo.

**Tabela A9-** Resultado das comparações múltiplas para TFR-CE.

Comparação (Avaliação)	Diferença Média estimada	Erro Padrão	Valor t	GL	p
Primeira - Segunda	-0,0063	0,0015	-4,17	24	<b>0,001</b>
Primeira - Terceira	-0,0138	0,0016	-8,53	24	<b>&lt;0,001</b>
Segunda - Terceira	-0,0075	0,0020	-3,83	24	<b>0,002</b>

**Tabela A10-** Resultado das comparações múltiplas para TFR-TG.

Comparação (Avaliação)	Diferença Média estimada	Erro Padrão	Valor t	GL	p
Primeira - Segunda	-0,0070	0,0026	-2,65	24	<b>0,036</b>
Primeira - Terceira	-0,0233	0,0034	-6,80	24	<b>&lt;0,001</b>
Segunda - Terceira	-0,0163	0,0029	-5,57	24	<b>&lt;0,001</b>

As Tabelas A9 e A10 mostram que os valores de TFR-CE e TFR-TG aumentam em média a cada avaliação ( $p < 0,05$ ).

**Tabela A11-** Resultado das ANOVAs para as medidas cinéticas.

Variável	Fator	GL num.	GL den.	Valor F	P
Método <sup>3</sup> H-TG	Grupo	1	23	1,59	0,220
	Tempo	7	161	560,82	<0,001
	Avaliação	2	46	260,33	<0,001
	Grupo*Tempo	7	161	0,14	0,995
	Grupo*Tempo*Avaliação	28	322	0,58	0,960
Método <sup>14</sup> C-CE	Grupo	1	23	1,59	0,221
	Tempo	7	161	413,32	<0,001
	Avaliação	2	46	736,27	<0,001
	Grupo*Tempo	7	161	0,92	0,492
	Grupo*Tempo*Avaliação	28	322	1,44	0,072

A Tabela A11 mostra que quando avaliamos tanto a curva de decaimento do <sup>3</sup>H-TG quanto de <sup>14</sup>C-CE o percentual médio de remoção plasmática é estatisticamente diferente entre os tempos ( $p < 0,001$ ) e as avaliações ( $p < 0,001$ ), sendo que os grupos apresentam comportamento semelhante ao longo dos tempos e avaliações ( $p > 0,05$  interações).

**Tabela A12-** Resultado das comparações múltiplas para o percentual de remoção do colesterol pelo método  $^3\text{H-TG}$ .

Comparação (Tempo/Avaliação)	Diferença Média estimada	Erro Padrão	Valor t	GL	p
4 min. - 6 min.	14,98	1,12	13,35	168	<0,001
4 min. - 10 min.	27,09	1,12	24,13	168	<0,001
4 min. - 15 min.	35,83	1,12	31,92	168	<0,001
4 min. - 20 min.	41,19	1,12	36,70	168	<0,001
4 min. - 30 min.	46,33	1,12	41,28	168	<0,001
4 min. - 45 min.	50,47	1,12	44,97	168	<0,001
4 min. - 60 min.	52,53	1,12	46,80	168	<0,001
6 min. - 10 min.	12,11	1,12	10,79	168	<0,001
6 min. - 15 min.	20,85	1,12	18,58	168	<0,001
6 min. - 20 min.	26,21	1,12	23,35	168	<0,001
6 min. - 30 min.	31,35	1,12	27,93	168	<0,001
6 min. - 45 min.	35,49	1,12	31,62	168	<0,001
6 min. - 60 min.	37,55	1,12	33,46	168	<0,001
10 min. - 15 min.	8,74	1,12	7,79	168	<0,001
10 min. - 20 min.	14,10	1,12	12,56	168	<0,001
10 min. - 30 min.	19,24	1,12	17,14	168	<0,001
10 min. - 45 min.	23,39	1,12	20,84	168	<0,001
10 min. - 60 min.	25,44	1,12	22,67	168	<0,001
15 min. - 20 min.	5,36	1,12	4,77	168	<0,001
15 min. - 30 min.	10,50	1,12	9,35	168	<0,001
15 min. - 45 min.	14,64	1,12	13,05	168	<0,001
15 min. - 60 min.	16,70	1,12	14,88	168	<0,001
20 min. - 30 min.	5,14	1,12	4,58	168	<0,001
20 min. - 45 min.	9,29	1,12	8,27	168	<0,001
20 min. - 60 min.	11,34	1,12	10,11	168	<0,001
30 min. - 45 min.	4,14	1,12	3,69	168	0,007
30 min. - 60 min.	6,20	1,12	5,52	168	<0,001
45 min. - 60 min.	2,06	1,12	1,83	168	0,599
Primeira - Segunda	10,87	0,69	15,81	48	<0,001
Primeira - Terceira	14,92	0,69	21,71	48	<0,001
Segunda - Terceira	4,05	0,69	5,89	48	<0,001

A Tabela A12 mostra que há redução média no percentual de remoção do colesterol avaliado pelo método  $^3\text{H-TG}$  estatisticamente significativa ao longo dos tempos ( $p < 0,05$ ) com exceção do tempo 45 minutos para 60 minutos, em que a redução não é estatisticamente significativa ( $p = 0,599$ ). Entre as avaliações, também, há redução média na remoção entre todas as avaliações ( $p < 0,05$ ).

**Tabela A13-** Resultado das comparações múltiplas para o percentual de remoção do colesterol pelo método  $^{14}\text{C}$ -CE.

Comparação (Tempo/Grupo/Avaliação)	Diferença Média estimada	Erro Padrão	Valor t	GL	p
4 min. - 6 min.	11,29	0,99	11,40	168	<0,001
4 min. - 10 min.	20,06	0,99	20,26	168	<0,001
4 min. - 15 min.	25,91	0,99	26,17	168	<0,001
4 min. - 20 min.	30,44	0,99	30,74	168	<0,001
4 min. - 30 min.	34,28	0,99	34,62	168	<0,001
4 min. - 45 min.	37,22	0,99	37,59	168	<0,001
4 min. - 60 min.	39,36	0,99	39,75	168	<0,001
6 min. - 10 min.	8,77	0,99	8,86	168	<0,001
6 min. - 15 min.	14,62	0,99	14,77	168	<0,001
6 min. - 20 min.	19,15	0,99	19,34	168	<0,001
6 min. - 30 min.	22,99	0,99	23,21	168	<0,001
6 min. - 45 min.	25,93	0,99	26,19	168	<0,001
6 min. - 60 min.	28,07	0,99	28,35	168	<0,001
10 min. - 15 min.	5,85	0,99	5,90	168	<0,001
10 min. - 20 min.	10,37	0,99	10,48	168	<0,001
10 min. - 30 min.	14,21	0,99	14,35	168	<0,001
10 min. - 45 min.	17,16	0,99	17,33	168	<0,001
10 min. - 60 min.	19,29	0,99	19,49	168	<0,001
15 min. - 20 min.	4,53	0,99	4,57	168	<0,001
15 min. - 30 min.	8,37	0,99	8,45	168	<0,001
15 min. - 45 min.	11,31	0,99	11,43	168	<0,001
15 min. - 60 min.	13,45	0,99	13,58	168	<0,001
20 min. - 30 min.	3,84	0,99	3,88	168	0,004
20 min. - 45 min.	6,78	0,99	6,85	168	<0,001
20 min. - 60 min.	8,92	0,99	9,01	168	<0,001
30 min. - 45 min.	2,95	0,99	2,98	168	0,065
30 min. - 60 min.	5,08	0,99	5,13	168	<0,001
45 min. - 60 min.	2,14	0,99	2,16	168	0,384
Grupo 1 Primeira - Grupo 1 Segunda	11,22	0,84	13,35	46	<0,001
Grupo 1 Primeira - Grupo 1 Terceira	21,59	0,84	25,67	46	<0,001
Grupo 1 Primeira - Grupo 2 Primeira	1,28	2,64	0,49	46	0,996
Grupo 1 Primeira - Grupo 2 Segunda	16,97	2,64	6,44	46	<0,001
Grupo 1 Primeira - Grupo 2 Terceira	24,15	2,64	9,17	46	<0,001
Grupo 1 Segunda - Grupo 1 Terceira	10,37	0,84	12,33	46	<0,001
Grupo 1 Segunda - Grupo 2 Primeira	-9,94	2,64	-3,77	46	0,006
Grupo 1 Segunda - Grupo 2 Segunda	5,75	2,64	2,18	46	0,267
Grupo 1 Segunda - Grupo 2 Terceira	12,93	2,64	4,91	46	<0,001
Grupo 1 Terceira - Grupo 2 Primeira	-20,30	2,64	-7,71	46	<0,001
Grupo 1 Terceira - Grupo 2 Segunda	-4,62	2,64	-1,75	46	0,505
Grupo 1 Terceira - Grupo 2 Terceira	2,56	2,64	0,97	46	0,924
Grupo 2 Primeira - Grupo 2 Segunda	15,68	0,88	17,92	46	<0,001
Grupo 2 Primeira - Grupo 2 Terceira	22,87	0,88	26,13	46	<0,001
Grupo 2 Segunda - Grupo 2 Terceira	7,18	0,88	8,21	46	<0,001

A Tabela A13 mostra que há redução média estatisticamente significativa no percentual de remoção do colesterol avaliado pelo método  $^{14}\text{C}$ -CE ao longo dos tempos ( $p < 0,05$ ), sendo que nos tempos finais a diferença já não acontece (30 minutos para 45 minutos e de 45 minutos para 60 minutos). Entre os grupos, não há diferença média estatisticamente significativa em nenhum momento específico ( $p > 0,05$ ), havendo diferença significativa em ambos os grupos ao longo dos tempos ( $p < 0,05$ ).

**Tabela A14-** Descrição das medidas de transferências segundo grupos e avaliações.

Variável	Avaliação	Grupo 1			Grupo 2		
		Média	DP	N	Média	DP	N
K1,0=K3,0	Primeira	0,098	0,097	13	0,095	0,053	12
	Segunda	0,143	0,102	13	0,140	0,056	12
	Terceira	0,173	0,065	13	0,179	0,054	12
K2,0=K4,0	Primeira	0,004	0,004	13	0,003	0,002	12
	Segunda	0,011	0,005	13	0,009	0,004	12
	Terceira	0,018	0,009	13	0,014	0,005	12
K5,0	Primeira	0,459	0,363	13	0,432	0,451	12
	Segunda	0,280	0,074	13	0,289	0,254	12
	Terceira	0,216	0,133	13	0,153	0,074	12
K1,2=k3,4	Primeira	0,140	0,125	13	0,093	0,047	12
	Segunda	0,105	0,067	13	0,073	0,034	12
	Terceira	0,067	0,028	13	0,060	0,025	12
K3,5	Primeira	0,099	0,094	13	0,115	0,028	12
	Segunda	0,079	0,063	13	0,088	0,038	12
	Terceira	0,076	0,054	13	0,051	0,030	12
K4,5	Primeira	0,019	0,009	13	0,016	0,007	12
	Segunda	0,013	0,019	13	0,015	0,022	12
	Terceira	0,012	0,019	13	0,012	0,023	12

A Tabela A14 e os Gráficos 13 a 18 parecem mostrar alteração nos valores de transferências entre as avaliações, mas não parece haver diferença entre os grupos.

**Tabela A15-** Resultado das ANOVAs para as medidas de transferência (Ks) entre grupos e avaliações.

Variável	Fator	GL num.	GL den.	Valor F	p
K1,0=K3,0	Grupo	1	23	0,00	0,994
	Avaliação	2	23	8,92	<b>0,001</b>
	Grupo*Avaliação	2	23	0,06	0,942
K2,0=K4,0	Grupo	1	23	2,78	0,109
	Avaliação	2	23	33,23	<b>&lt;0,001</b>
	Grupo*Avaliação	2	23	0,29	0,751
K5,0	Grupo	1	23	0,23	0,636
	Avaliação	2	23	7,69	<b>0,003</b>
	Grupo*Avaliação	2	23	0,32	0,727
K1,2=k3,4	Grupo	1	23	3,38	0,079
	Avaliação	2	23	7,48	<b>0,003</b>
	Grupo*Avaliação	2	23	1,35	0,279
K3,5	Grupo	1	23	0,00	0,987
	Avaliação	2	23	4,88	<b>0,017</b>
	Grupo*Avaliação	2	23	1,61	0,223
K4,5	Grupo	1	23	0,00	0,954
	Avaliação	2	23	0,87	0,431
	Grupo*Avaliação	2	23	0,12	0,885



Pela Tabela A15, tem-se que todas as medidas de transferências, com exceção da  $K_{4,5}$  sofrem alteração média entre as avaliações ( $p < 0,05$ ), não havendo diferença entre os grupos e nem comportamento diferente entre os grupos ao longo das avaliações ( $p > 0,05$ ).

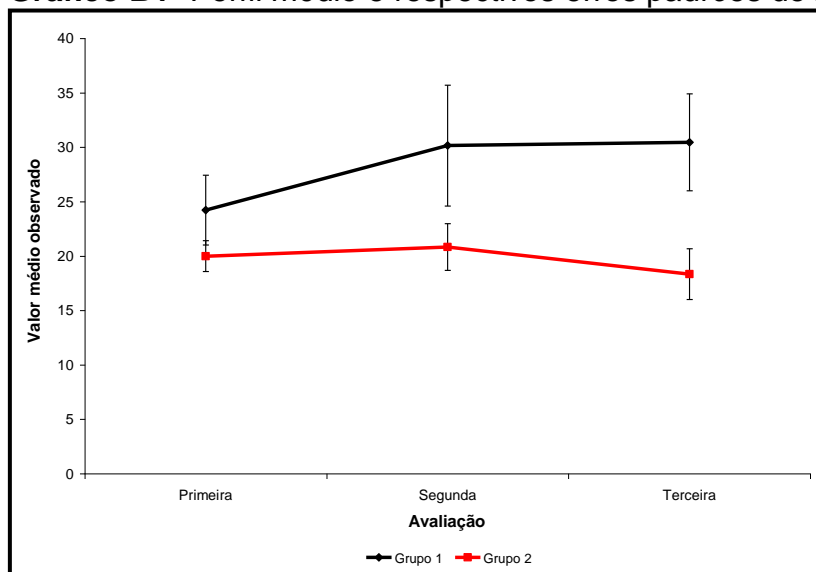
**Tabela A16-** Resultado das comparações múltiplas de Tukey para comparar as medidas de transferência entre as avaliações.

Variável	Comparação (Avaliação)	Diferença Média estimada	Erro Padrão	Valor t	GL	p
K1,0=K3,0	Primeira - Segunda	-0,045	0,019	-2,35	24	0,068
	Primeira - Terceira	-0,079	0,019	-4,13	24	<b>0,001</b>
	Segunda - Terceira	-0,034	0,015	-2,33	24	0,071
K2,0=K4,0	Primeira - Segunda	-0,006	0,001	-5,13	24	<b>&lt;0,001</b>
	Primeira - Terceira	-0,012	0,002	-8,04	24	<b>&lt;0,001</b>
	Segunda - Terceira	-0,006	0,001	-4,73	24	<b>&lt;0,001</b>
K5,0	Primeira - Segunda	0,162	0,090	1,80	24	0,192
	Primeira - Terceira	0,261	0,079	3,31	24	<b>0,008</b>
	Segunda - Terceira	0,099	0,047	2,12	24	0,108
K1,2=k3,4	Primeira - Segunda	0,028	0,021	1,31	24	0,405
	Primeira - Terceira	0,054	0,019	2,86	24	<b>0,023</b>
	Segunda - Terceira	0,026	0,010	2,48	24	0,052
K3,5	Primeira - Segunda	0,023	0,015	1,58	24	0,272
	Primeira - Terceira	0,043	0,015	2,86	24	<b>0,023</b>
	Segunda - Terceira	0,020	0,012	1,66	24	0,239

A Tabela A16 mostra que para as medidas de transferência que apresentaram diferença estatisticamente significativa entre as avaliações, as diferenças se dão entre a primeira e a terceira avaliação ( $p < 0,05$ ), sendo que  $K_{1,0}=K_{3,0}$  aumenta da primeira para a terceira avaliação e as demais diminuem. A única medida que apresenta aumento médio de uma avaliação para outra é  $K_{2,0}=K_{4,0}$  ( $p < 0,05$ ).

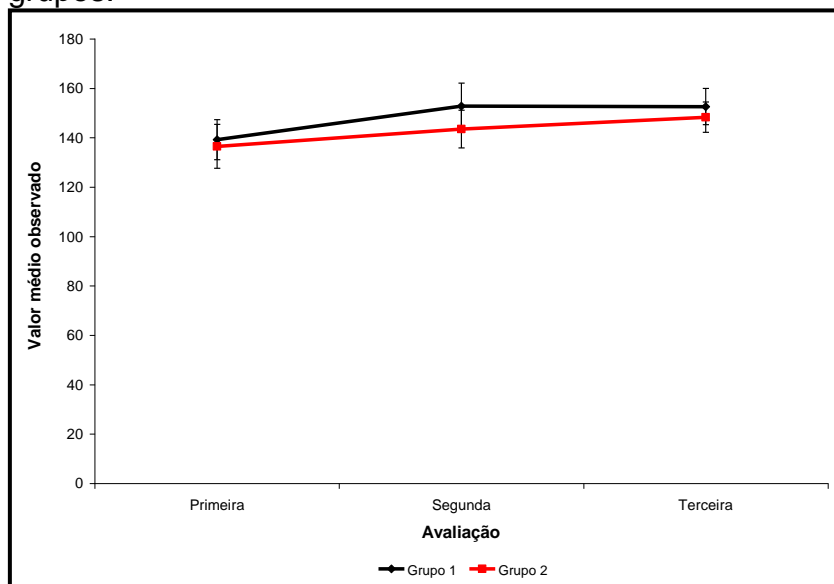
**ANEXO B – Gráficos com resultados estatísticos e de comparação entre os grupos 01 e 02 ao longo das 03 avaliações:**

**Gráfico B1-** Perfil médio e respectivos erros padrões de ALT segundo grupos.



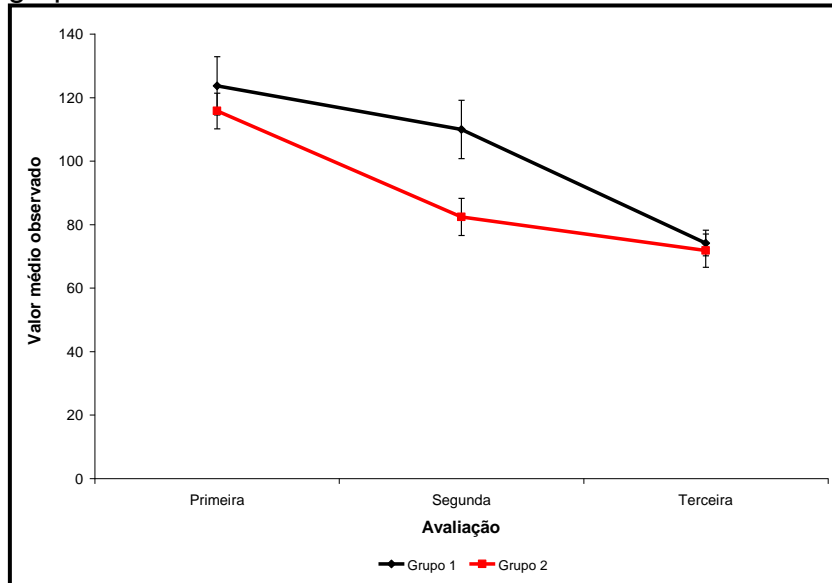
O Gráfico B1 sugere maior valor de ALT no grupo 1, que parece diferir mais do grupo 2 com as avaliações.

**Gráfico B2-** Perfil médio e respectivos erros padrões de Apo A1 segundo grupos.



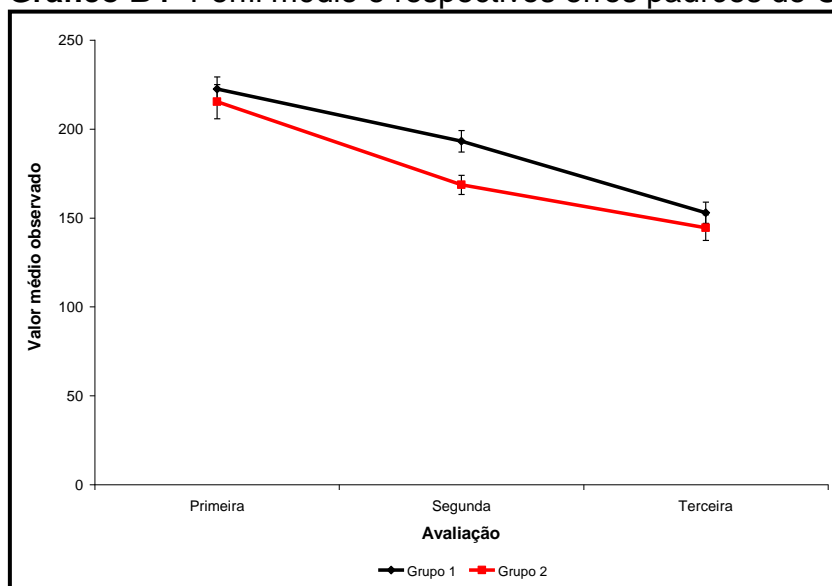
O Gráfico B2 não parece mostrar qualquer diferença no Apo A1 entre os grupos ou entre as avaliações.

**Gráfico B3-** Perfil médio e respectivos erros padrões de Apo B segundo grupos.

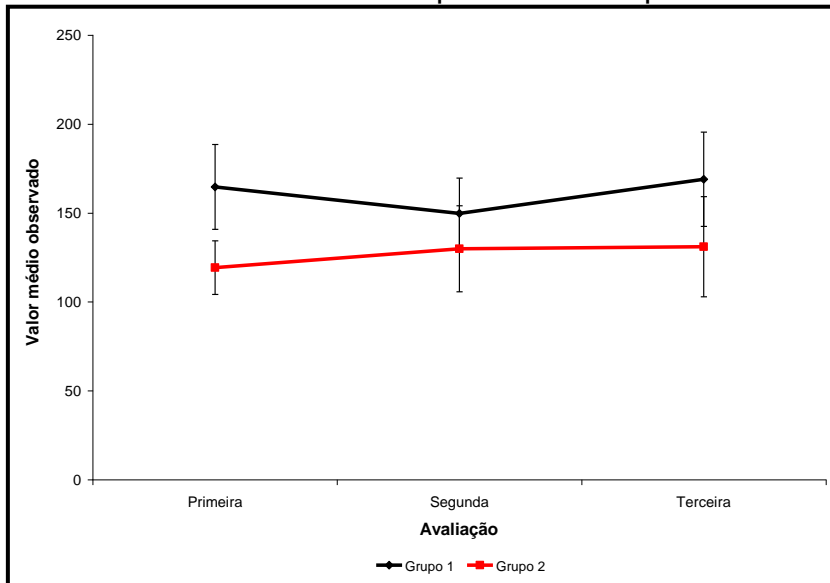


Pelo Gráfico B3, parece que o Apo B se comporta diferentemente nos dois grupos, sendo mais acentuada a queda na segunda avaliação no grupo 2.

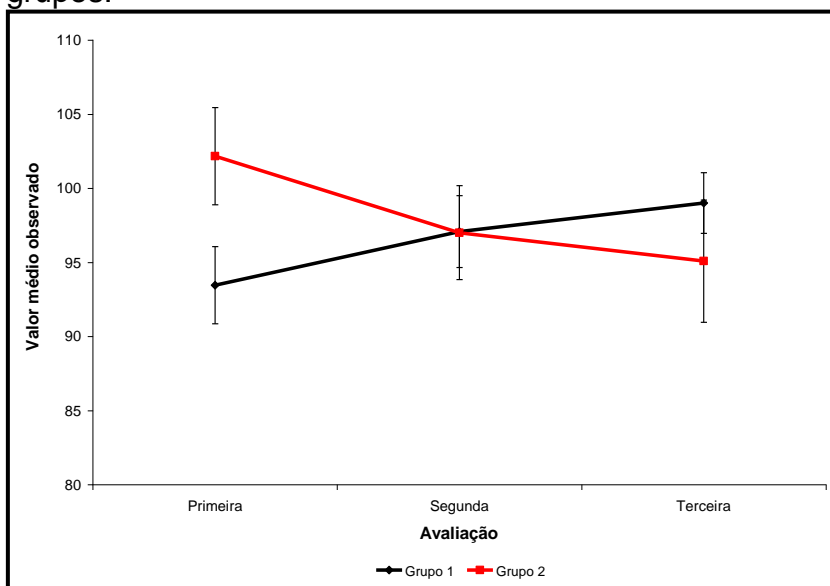
**Gráfico B4-** Perfil médio e respectivos erros padrões de CT segundo grupos.



O Gráfico B4 sugere que o comportamento de CT é similar ao do Apo B.

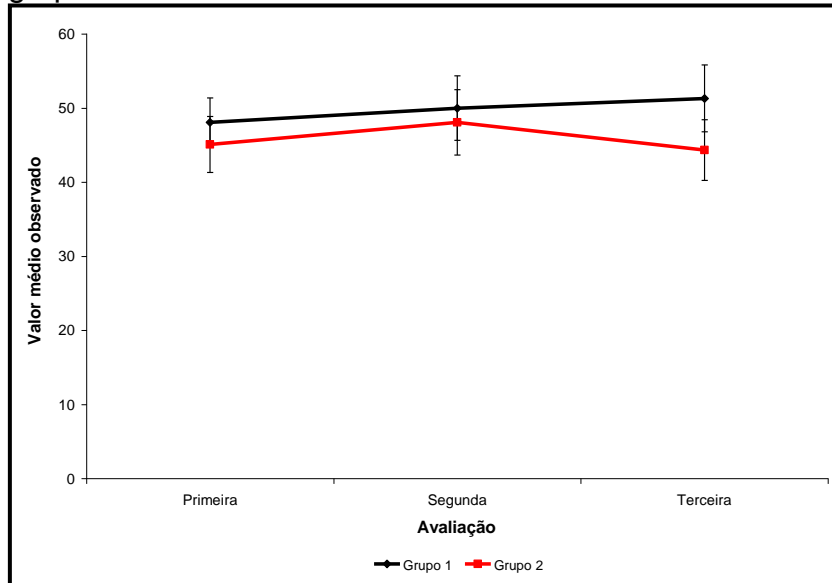
**Gráfico B5-** Perfil médio e respectivos erros padrões de CK segundo grupos.

Pelo Gráfico B5, não parece haver diferença entre os grupos ou avaliações para os valores de CK.

**Gráfico B6-** Perfil médio e respectivos erros padrões de glicose segundo grupos.

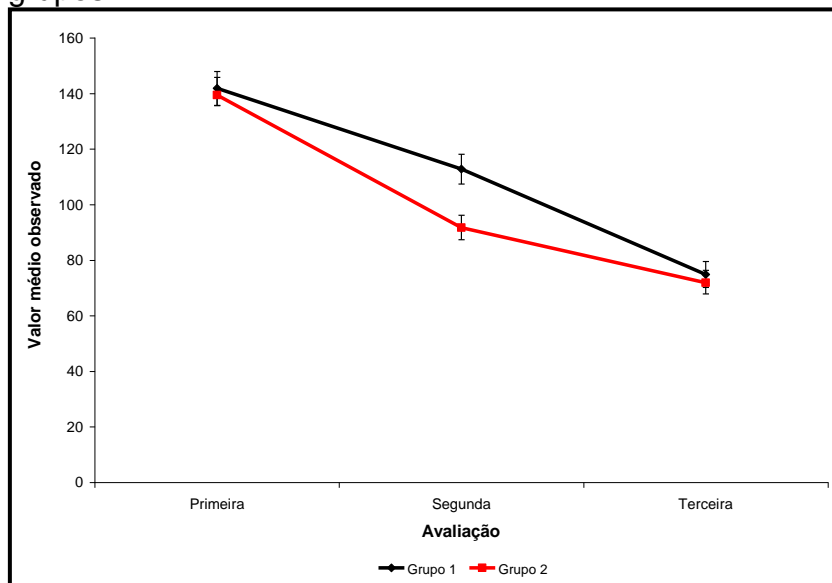
O Gráfico B6 sugere maior valor de glicose no grupo 2 apenas na primeira avaliação.

**Gráfico B7-** Perfil médio e respectivos erros padrões de HDL-C segundo grupos.



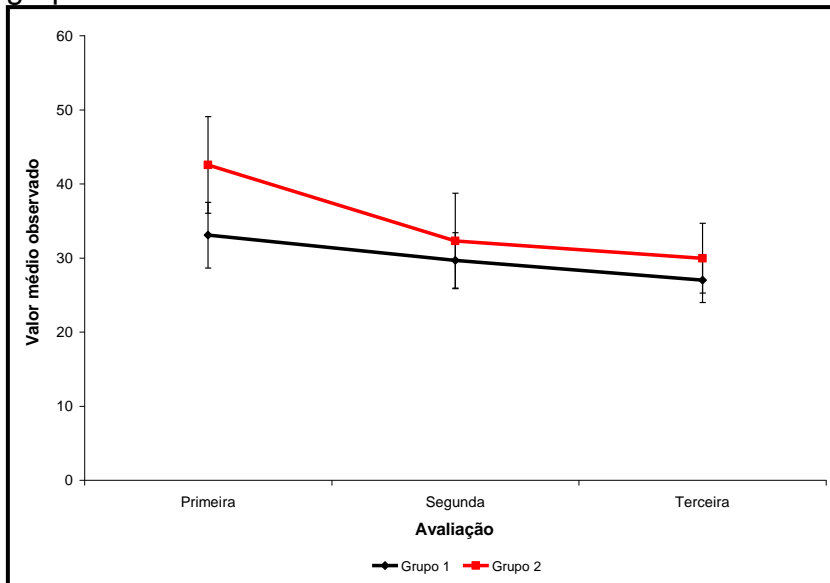
Pelo Gráfico B7, parece que os níveis de HDL-C não diferem entre os grupos ou entre as avaliações.

**Gráfico B8-** Perfil médio e respectivos erros padrões de LDL-C segundo grupos.



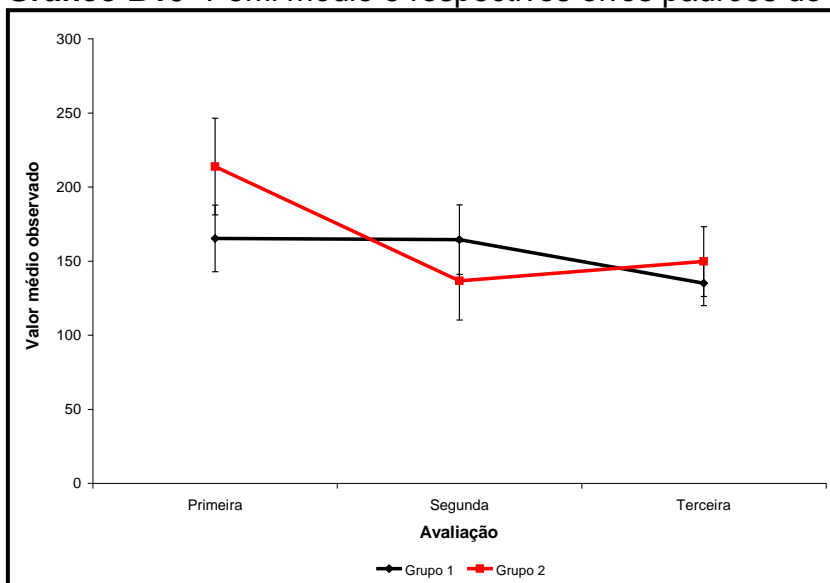
O Gráfico B8 parece mostrar um comportamento diferente do LDL-C entre os grupos ao longo das avaliações.

**Gráfico B9-** Perfil médio e respectivos erros padrões de VLDL-C segundo grupos.



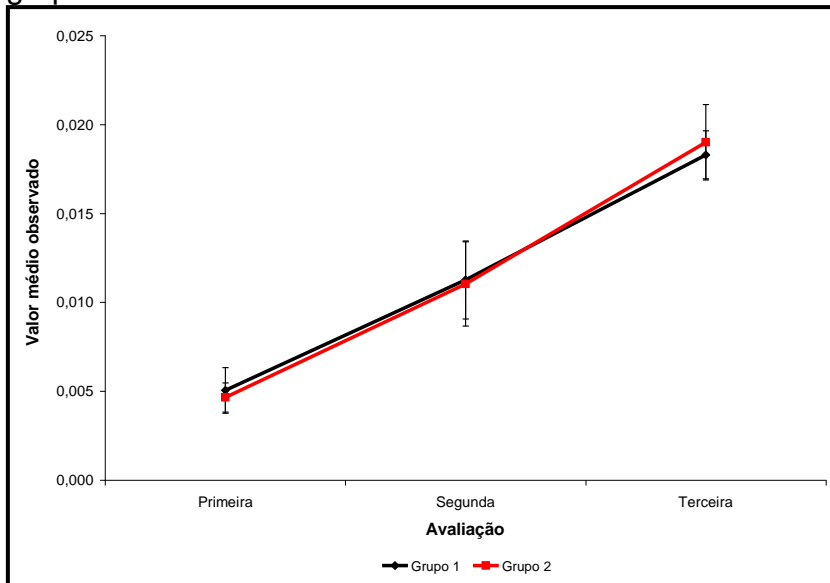
Pelo Gráfico B9, parece que os níveis de VLDL-C são iguais nos dois grupos e sugere uma diminuição ao longo das avaliações.

**Gráfico B10-** Perfil médio e respectivos erros padrões de TG segundo grupos.



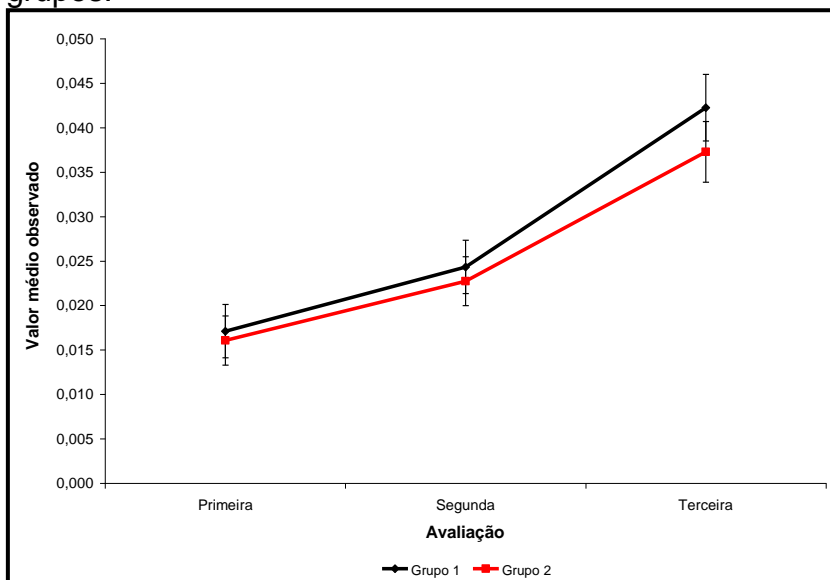
Os níveis de TG não parecem diferir entre os grupos ou ao longo das avaliações como pode ser observado pelo Gráfico B10.

**Gráfico B11-** Perfil médio e respectivos erros padrões de TFR-CE segundo grupos.



Pelo Gráfico B11, parece não haver diferença entre os grupos no TFR-CE, sendo que ambos os grupos parecem aumentar seu valor a cada avaliação.

**Gráfico B12-** Perfil médio e respectivos erros padrões de TFR-TG segundo grupos.



O Gráfico B12 não parece mostrar diferença entre os grupos no TFR-TG, sendo que ambos os grupos parecem aumentar seu valor a cada avaliação.

## **9- REFERÊNCIAS**



- 
- 1- Groot, P. H., van Stiphout, W. A., Krauss, X. H., *et al.* Postprandial lipoprotein metabolism in normolipidemic men with and without coronary artery disease. *Arterioscler Thromb.* 1991; 11 (3): 653-62.
  - 2- Patsch, J. R., Miesenbock, G., Hopferwieser, T., *et al.* Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. Studies in the postprandial state. *Arterioscler Thromb.* 1992; 12 (11): 1336-45.
  - 3- Bishop, J. R., Stanford, K. I. and Esko, J. D. Heparan sulfate proteoglycans and triglyceride-rich lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol.* 2008; 19 (3): 307-13.
  - 4- Dallinga-Thie, G. M., Franssen, R., Mooij, H. L., *et al.* The metabolism of triglyceride-rich lipoproteins revisited: new players, new insight. *Atherosclerosis.* 2010; 211 (1): 1-8.
  - 5- Sposito, A. C., Ventura, L. I., Vinagre, C. G., *et al.* Delayed intravascular catabolism of chylomicron-like emulsions is an independent predictor of coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2004; 176 (2): 397-403.
  - 6- Sposito, A. C., Lemos, P. A., Santos, R. D., *et al.* Impaired intravascular triglyceride lipolysis constitutes a marker of clinical outcome in patients with stable angina undergoing secondary prevention treatment: a long-term follow-up study. *J Am Coll Cardiol.* 2004; 43 (12): 2225-32.
  - 7- Maranhao, R. C., Feres, M. C., Martins, M. T., *et al.* Plasma kinetics of a chylomicron-like emulsion in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 1996; 126 (1): 15-25.
  - 8- Weintraub, M. S., Grosskopf, I., Rassin, T., *et al.* Clearance of chylomicron remnants in normolipidaemic patients with coronary artery disease: case control study over three years. *BMJ.* 1996; 312 (7036): 935-9.

- 
- 9- Van Lenten, B. J., Fogelman, A. M., Jackson, R. L., *et al.* Receptor-mediated uptake of remnant lipoproteins by cholesterol-loaded human monocyte-macrophages. *J Biol Chem.* 1985; 260 (15): 8783-8.
- 10- Sposito, A. C., Santos, R. D., Hueb, W., *et al.* LDL concentration is correlated with the removal from the plasma of a chylomicron-like emulsion in subjects with coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2002; 161 (2): 447-53.
- 11- Bernardes-Silva, H., Toffoletto, O., Bortolotto, L. A., *et al.* Malignant hypertension is accompanied by marked alterations in chylomicron metabolism. *Hypertension.* 1995; 26 (6 Pt 2): 1207-10.
- 12- Sposito, A. C., Santos, R. D., Amancio, R. F., *et al.* Atorvastatin enhances the plasma clearance of chylomicron-like emulsions in subjects with atherogenic dyslipidemia: relevance to the in vivo metabolism of triglyceride-rich lipoproteins. *Atherosclerosis.* 2003; 166 (2): 311-21.
- 13- Santos, R. D., Sposito, A. C., Ventura, L. I., *et al.* Effect of pravastatin on plasma removal of a chylomicron-like emulsion in men with coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2000; 85 (10): 1163-6.
- 14- Cianflone, K., Bilodeau, M., Davignon, J., *et al.* Modulation of chylomicron remnant metabolism by an hepatic hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor. *Metabolism.* 1990; 39 (3): 274-80.
- 15- Baigent, C., Keech, A., Kearney, P. M., *et al.* Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet.* 2005; 366 (9493): 1267-78.

- 
- 16- Baigent, C., Blackwell, L., Emberson, J., *et al.* Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*. 2010; 376 (9753): 1670-81.
- 17- Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet*. 1994; 344 (8934): 1383-9.
- 18- van Heek, M., Farley, C., Compton, D. S., *et al.* Comparison of the activity and disposition of the novel cholesterol absorption inhibitor, SCH58235, and its glucuronide, SCH60663. *Br J Pharmacol*. 2000; 129 (8): 1748-54.
- 19- Knopp, R. H., Dujovne, C. A., Le Beaut, A., *et al.* Evaluation of the efficacy, safety, and tolerability of ezetimibe in primary hypercholesterolaemia: a pooled analysis from two controlled phase III clinical studies. *Int J Clin Pract*. 2003; 57 (5): 363-8.
- 20- Rosenblum, S. B., Huynh, T., Afonso, A., *et al.* Discovery of 1-(4-fluorophenyl)-(3R)-[3-(4-fluorophenyl)-(3S)-hydroxypropyl]-(4S)-(4-hydroxyphenyl)-2-azetidinone (SCH 58235): a designed, potent, orally active inhibitor of cholesterol absorption. *J Med Chem*. 1998; 41 (6): 973-80.
- 21- Altmann, S. W., Davis, H. R., Jr., Zhu, L. J., *et al.* Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science*. 2004; 303 (5661): 1201-4.
- 22- Pearson, T. A., Ballantyne, C. M., Veltri, E., *et al.* Pooled analyses of effects on C-reactive protein and low density lipoprotein cholesterol in placebo-controlled trials of ezetimibe monotherapy or ezetimibe added to baseline statin therapy. *Am J Cardiol*. 2009; 103 (3): 369-74.

- 
- 23- van Heek, M., Farley, C., Compton, D. S., *et al.* Ezetimibe selectively inhibits intestinal cholesterol absorption in rodents in the presence and absence of exocrine pancreatic function. *Br J Pharmacol.* 2001; 134 (2): 409-17.
- 24- van Heek, M., Compton, D. S. and Davis, H. R. The cholesterol absorption inhibitor, ezetimibe, decreases diet-induced hypercholesterolemia in monkeys. *Eur J Pharmacol.* 2001; 415 (1): 79-84.
- 25- Tremblay, A. J., Lamarche, B., Cohn, J. S., *et al.* Effect of ezetimibe on the in vivo kinetics of apoB-48 and apoB-100 in men with primary hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006; 26 (5): 1101-6.
- 26- Tremblay, A. J., Lamarche, B., Hogue, J. C., *et al.* Effects of ezetimibe and simvastatin on apolipoprotein B metabolism in males with mixed hyperlipidemia. *J Lipid Res.* 2009; 50 (7): 1463-71.
- 27- Yunoki, K., Nakamura, K., Miyoshi, T., *et al.* Ezetimibe improves postprandial hyperlipemia and its induced endothelial dysfunction. *Atherosclerosis.* 2011;
- 28- Santos, R. D., Chacra, A. P., Morikawa, A., *et al.* Plasma kinetics of free and esterified cholesterol in familial hypercholesterolemia: effects of simvastatin. *Lipids.* 2005; 40 (7): 737-43.
- 29- Dane-Stewart, C. A., Watts, G. F., Mamo, J. C., *et al.* Effect of Simvastatin on markers of triglyceride-rich lipoproteins in familial hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest.* 2002; 32 (7): 493-9.
- 30- McGowan, M. P. There is no evidence for an increase in acute coronary syndromes after short-term abrupt discontinuation of statins in stable cardiac patients. *Circulation.* 2004; 110 (16): 2333-5.

- 
- 31- Borba, E. F., Bonfa, E., Vinagre, C. G., *et al.* Chylomicron metabolism is markedly altered in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2000; 43 (5): 1033-40.
- 32- Redgrave, T. G. and Zech, L. A. A kinetic model of chylomicron core lipid metabolism in rats: the effect of a single meal. *J Lipid Res.* 1987; 28 (5): 473-82.
- 33- Simons, L. A., Dwyer, T., Simons, J., *et al.* Chylomicrons and chylomicron remnants in coronary artery disease: a case-control study. *Atherosclerosis.* 1987; 65 (1-2): 181-9.
- 34- Nakandakare, E. R., Lottenberg, S. A., Oliveira, H. C., *et al.* Simultaneous measurements of chylomicron lipolysis and remnant removal using a doubly labeled artificial lipid emulsion: studies in normolipidemic and hyperlipidemic subjects. *J Lipid Res.* 1994; 35 (1): 143-52.
- 35- Santos, R. D., Ventura, L. I., Sposito, A. C., *et al.* The effects of gemfibrozil upon the metabolism of chylomicron-like emulsions in patients with endogenous hypertriglyceridemia. *Cardiovasc Res.* 2001; 49 (2): 456-65.
- 36- Baigent, C., Landray, M. J., Reith, C., *et al.* The effects of lowering LDL cholesterol with simvastatin plus ezetimibe in patients with chronic kidney disease (Study of Heart and Renal Protection): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2011; 377 (9784): 2181-92.
- 37- Cannon, C. P., Giugliano, R. P., Blazing, M. A., *et al.* Rationale and design of IMPROVE-IT (IMProved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial): comparison of ezetimibe/simvastatin versus simvastatin monotherapy on cardiovascular outcomes in patients with acute coronary syndromes. *Am Heart J.* 2008; 156 (5): 826-32.

- 
- 38- Reihner, E., Rudling, M., Stalberg, D., *et al.* Influence of pravastatin, a specific inhibitor of HMG-CoA reductase, on hepatic metabolism of cholesterol. *N Engl J Med.* 1990; 323 (4): 224-8.
- 39- Sudhop, T., Lütjohann, D., Kodal, A., *et al.* Inhibition of intestinal cholesterol absorption by ezetimibe in humans. *Circulation.* 2002; 106 (15): 1943-8.
- 40- Telford, D. E., Sutherland, B. G., Edwards, J. Y., *et al.* The molecular mechanisms underlying the reduction of LDL apoB-100 by ezetimibe plus simvastatin. *J Lipid Res.* 2007; 48 (3): 699-708.
- 41- Gouni-Berthold, I., Berthold, H. K., Gylling, H., *et al.* Effects of ezetimibe and/or simvastatina on LDL receptor protein expression and on LDL receptor and HMG-CoA reductase gene expression: a randomized trial in healthy men. *Atherosclerosis.* 2008; 198 (1): 198-207.
- 42- Rensen, P. C. N., Herijgens, N., Netsher, M. H., *et al.* Particle size determines the specificity of apolipoprotein E-containing triglyceride-rich emulsions for the LDL receptor versus hepatic remnant receptor in vivo. *Journal of Lipid Research.* 1997; 38 1070-1084.
- 43- Di Angelantonio, E., Sarwar, N., Perry, P., *et al.* Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA.* 2009; 302 (18): 1993-2000.

