

Ausência de Efeito do Captopril no Metabolismo de uma Emulsão Lipídica Artificial Semelhante aos Quilomícrons em Pacientes Hipertensos e Hipercolesterolêmicos

Renato J. Alves, Jayme Diament, Rosângela F. Amâncio, Neusa Forti, Raul C. Maranhão
São Paulo, SP

Objetivo

Avaliar o efeito do captopril, sobre o metabolismo dos quilomícrons e de seus remanescentes e as possíveis alterações nas concentrações dos lípides plasmáticos em hipertensos e hipercolesterolêmicos.

Métodos

O metabolismo dos quilomícrons foi testado pelo método da emulsão lipídica artificial de quilomícrons marcada com 3H-oleato de colesterol, foi injetada intravenosamente em 10 pacientes com hipertensão arterial leve-moderada antes e após 45 dias de tratamento com captopril (50 mg/dia). Após injeção, foram coletadas amostras de sangue durante 60min em intervalos de tempo pré-estabelecidos para determinar a curva de decaimento e a taxa fracional de remoção (TFR em min⁻¹), bem como o tempo de residência no plasma, da emulsão lipídica artificial, por análise compartimental. As concentrações dos lípides do plasma também foram avaliadas antes e após o tratamento.

Resultados

A taxa fracional de remoção (em min⁻¹) da emulsão lipídica antes e após o tratamento com captopril ($0,012 \pm 0,003$ e $0,011 \pm 0,003$, respectivamente; $p=0,85$, n.s.) ou o tempo de permanência da emulsão no plasma ($83,3 \pm 20,8$ e $90,9 \pm 22,5$ min, n.s.) não se alteraram, mas os níveis de colesterol total e de LDL-c reduziram-se em 7% e 10% respectivamente ($p=0,02$). As concentrações de HDL-c, triglicérides, Lp(a) e apolipoproteínas A1 e B não se modificaram.

Conclusão

O tratamento com captopril, avaliado pelo método da emulsão lipídica artificial, não provoca alterações deletérias no metabolismo dos quilomícrons e seus remanescentes.

Palavras chave

captopril, quilomícrons, lipoproteínas, metabolismo

Laboratório de Metabolismo de Lípides do InCor da Faculdade de Medicina da USP e Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.
Correspondência para: Raul C. Maranhão - Instituto do Coração do HC-FMUSP - Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44 - Cep 05423-000 São Paulo, SP - E-mail: ramarans@usp.br
Recebido para publicação em: 07/08/2003
Aceito em: 05/05/2004

O tratamento com alguns agentes anti-hipertensivos pode provocar alterações indesejáveis no perfil lipídico, atenuando seus efeitos benéficos anti-aterogênicos na redução da pressão arterial. Os efeitos dos anti-hipertensivos no perfil lipídico variam tanto na classe farmacológica, quanto no fármaco especificamente. Diuréticos tiazídicos, como a hidroclorotiazida e a clortalidona, e beta-bloqueadores não cardiosseletivos e sem atividade simpaticomimética intrínseca, como o propranolol, são os principais agentes deletérios ao perfil lipídico^{1,2}. Entre as alterações causadas por esses agentes estão o aumento nos níveis de triglicérides e redução de HDL-c. Por outro lado, inibidores da enzima de conversão da angiotensina (ECA), como o captopril, parecem ter efeito neutro no perfil lipídico, ou mesmo, melhorá-lo em hipertensos hipercolesterolêmicos, por meio de redução dos valores de LDL-c e de colesterol total³.

Os quilomícrons são as lipoproteínas plasmáticas responsáveis pelo transporte dos lípides da dieta absorvidos pelo intestino. Possuem a mesma via metabólica das VLDL produzidas pelo fígado. Semelhante às VLDL, os quilomícrons são submetidos à ação da enzima lipase lipoprotéica na parede dos capilares. Esta enzima é estimulada pela apolipoproteína (apo) CII, uma das apos presente na superfície dos quilomícrons. Os triglicérides das partículas de quilomícrons sofrem hidrólise pela lipase lipoproteica, transformando-se em ácidos graxos e glicerol, que serão captados pelos tecidos muscular e adiposo, onde serão armazenados após reesterificação.

Após sofrer processo de lipólise, os quilomícrons dão origem a partículas menores, os remanescentes de quilomícrons. Estas partículas são seqüestradas no espaço de Disse e captadas por células hepáticas, através de receptores específicos, entre os quais os receptores de LDL e a proteína relacionada ao receptor de LDL (LRP)4. A apo E funciona como o principal ligante dos remanescentes de quilomícrons aos receptores hepáticos⁵.

Os remanescentes de quilomícrons são considerados lipoproteínas aterogênicas e sua remoção mais lenta está diretamente relacionada com a doença arterial coronariana⁶. A avaliação deste metabolismo é importante para o completo entendimento do metabolismo lipídico em hipertensos em uso de um determinado agente farmacológico. Além disso, os efeitos dos anti-hipertensivos no metabolismo dos quilomícrons têm sido raramente investigados, devido dificuldade metodológica.

Neste estudo, os efeitos do captopril, na remoção dos remanescentes de quilomícrons da circulação, foram avaliados em um grupo de portadores de hipertensão arterial leve-moderada e concomitante hipercolesterolemia, condição patológica muito comum; nesta, não



só o controle da pressão arterial é importante para reduzir o risco aterosclerótico, mas também o controle da hipercolesterolemia e o aparecimento de outras condições pró-aterogênicas, como as alterações no metabolismo das lipoproteínas ricas em triglicérides e retenção dos remanescentes de quilomícrons. O metabolismo intravascular dos quilomícrons foi avaliado pela remoção plasmática de uma emulsão lipídica artificial rica em triglicérides, que simula o comportamento intravascular dos quilomícrons. A emulsão, marcada com oleato de colesterol radioativo (3H-CO) e injetada intravenosamente após 12h de jejum, reflete a cinética plasmática dos remanescentes de quilomícrons⁶, método que facilita o estudo metabólico destas lipoproteínas em seres humanos, ultrapassando o componente gastrointestinal e não sendo afetado pela variabilidade individual da absorção intestinal. Esta emulsão lipídica artificial tem sido usada para revelar distúrbios do metabolismo dos quilomícrons em diversas doenças^{7,8,9} e investigar efeitos de drogas hipolipemiantes neste metabolismo^{10,11}.

Métodos

Foram avaliados 10 indivíduos (8 mulheres) com hipertensão arterial leve-moderada, idade $60,7 \pm 2,2$ anos, colesterolemia > 240 mg/dL, triglicérides < 200 mg/dL e glicemia de jejum < 110 mg/dL. A Tabela I mostra as características dos pacientes. O tratamento anti-hipertensivo foi interrompido 30 dias antes do estudo e o diagnóstico de hipertensão arterial baseou-se no *VI Joint National Committee*¹².

Os critérios de exclusão eram: doença arterial coronariana; diabetes mellitus; mulheres na pré-menopausa; alcoolismo; disfunção renal, hepática ou tireoideana; doença inflamatória aguda e neoplasia. Nenhum paciente recebeu terapia de reposição hormonal ou terapia hipolipemiante nos 6 meses que precederam o estudo.

Os pacientes submeteram-se ao tratamento com captopril por 45 dias, na posologia de 25 mg em duas tomadas diárias (50 mg/dia). A cinética plasmática da emulsão lipídica e a determinação dos lípides e apolipoproteínas do plasma foram realizados antes e após a terapêutica com captopril.

O protocolo foi aprovado pela comissão científica e de ética do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e um consentimento escrito foi obtido de todos os participantes do estudo.

Colesterol total e triglicérides foram determinados pelo método colorimétrico enzimático (CHOD-PAP), Boeringher e Abbott respectivamente. Apolipoproteínas AI e B por imunodifusão radial (Boeringher) e Lp(a) por imunoturbidimetria.

O metabolismo dos quilomícrons foi avaliado pelo método da emulsão lipídica artificial marcada com 3H-oleato de colesterol. O *clearance* do oleato de colesterol reflete a remoção plasmática das partículas da emulsão marcadas com o radioisótopo, enquanto o "clearance" da trioleína reflete o processo lipolítico.

A emulsão lipídica foi preparada por irradiação ultrassônica da mistura de lípides composta por 69% de trioleína, 6% de oleato de colesterol, 23% de fosfolípidos e 2% de colesterol livre em meio aquoso, com adição de 3H-oleato de colesterol, seguido por ultracentrifugação em gradiente de densidade salina, como descrito previamente¹³. Após, a emulsão foi esterilizada através da passagem por um filtro de $0,2 \mu\text{m}$. Cerca de 3 a 5 mg da emulsão lipídica em um volume de aproximadamente 100 a 200 μL , con-

tendo $4 \mu\text{Ci}$ de oleato de colesterol, marcada com trício (3H-CO), foi injetada intravenosamente em bolus e amostras de sangue foram coletadas nos intervalos de tempo pré-estabelecidos.

Alíquotas de 1,0 mL de plasma foram pipetadas em frascos de cintilação. Acrescentou-se a esses frascos, 7,0 mL de solução cintiladora PPO/POPOP/tritonX-100/tolueno (0,5g; 0,5g; 333 mL; 667mL) para a determinação da radioatividade presente nas amostras, utilizando-se um contador Beta (Packard, modelo 1660 TR, EUA).

Amostras de sangue foram colhidas durante 60min, com intervalos de tempo pré-estabelecidos de 2,4,6,10,15,20,30,45 e 60min. A curva de decaimento plasmático da radioatividade residual da emulsão foi determinada antes e após o tratamento com captopril, em função do tempo. A taxa fracional de remoção do éster de colesterol (TFR-CE), em min^{-1} , que representa a fração da partícula que é removida do compartimento plasmático, foi calculada por análise compartimental, com auxílio de um programa computacional (AnaComp 4.1) desenvolvido para análise da cinética de emulsões artificiais¹⁴.

A cinética foi expressa tanto em TFR como em tempos de residência no plasma, calculados por meio de $1/\text{TFR}$. No modelo utilizado, demonstrado na figura 1, foi avaliada a cinética plasmática dos componentes lipídicos radioativos. A partir desse modelo e com base no método dos mínimos quadrados não linear, foram calculadas as TFR(K) do lípide marcado entre os compartimentos. Nesta figura, o compartimento número 1 representa a emulsão marcada com 3H-CE, introduzida no espaço intravascular; o K1,0 representa a fração da emulsão que é retirada do compartimento plasmático por via não específica; o K1,2 a fração da emulsão que sofre ação da enzima lipase lipoprotéica, se transformando no remanescente de quilomícron, o qual é representado pelo compartimento 2; o K2,0 a fração do remanescente de quilomícron que é removida do compartimento plasmático, principalmente por captação hepática.

A curva experimental do decaimento plasmático da radioatividade do 3H-oleato de colesterol foi obtida colocando-se os valores brutos e percentuais da radioatividade residual plasmática em um gráfico em função do tempo, por meio dos intervalos pré-estabelecidos acima. O resultado mostrou aspecto biexponencial da curva, que se caracteriza por queda rápida da radioatividade residual, o que representa a remoção rápida das partículas. Após essa queda rápida, segue-se um decaimento plasmático mais lento. Por fim, há uma tendência a uma forma de platô da curva, ou até discreta elevação, indicando que os componentes radioativos reciclam incorporados nas VLDL recentemente sintetizadas no fígado.

O teste de Wilcoxon foi usado para comparação da TFR-CE, pressão arterial e valores dos lípides do plasma antes e após a terapêutica com captopril. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes, adotando-se um intervalo de confiança de 95%.

Resultados

A tabela I mostra que o tratamento com captopril reduziu os níveis de colesterol total e LDL-c em 7% e 10% respectivamente ($p=0,02$). Contudo, esta terapêutica não modificou os valores de HDL-c, triglicérides, Lp(a) e apolipoproteínas AI e B.

A figura 2 exhibe as curvas de decaimento plasmático da radioatividade da emulsão lipídica, obtidas antes e após do tratamento com captopril. Não há diferença nas duas curvas.

Tabela I. Características clínicas e metabólicas dos pacientes		
Características	Antes do tratamento	Após o tratamento
Homens (n)	2	2
Mulheres (n)	8	8
Idade (anos)	60,7±2,20	
IMC (Kg/m ²)	26,48±0,63	26,48±0,63
Branços	10	10
Negros	0	0
Pressão arterial sistólica (mmHg)	155±3,07	139±3,14 ‡
Pressão arterial diastólica (mmHg)	99±1,80	88±1,33 ‡
Colesterol total (mg/dL)	265,5±21,7	248,4±21,1*
Triglicérides (mg/dL)	132,4±16,9	143,4±20,1
HDL-c (mg/dL)	55,1±3,2	53,8±3,2
LDL-c (mg/dL)	183,9±19,7	165,9±18,8 *
Lipoproteína (a) (mg/dL)	45,24±9,76	43,91±10,97
Apolipoproteína AI (g/L)	1,55±0,05	1,52±0,04
Apolipoproteína B (g/L)	1,46±0,15	1,35±0,16
TFR-CE (min-1)	0,012±0,003	0,011±0,003
Tempo de residência no plasma (min)	83,3±20,8	90,9±22,5

LDL = lipoproteína de baixa densidade; HDL = lipoproteína de alta densidade; IMC = índice de massa corpórea; TFR-CE = taxa fracional de remoção do éster de colesterol. Dados expressos em média ± erro padrão da média.
* p < 0,05.

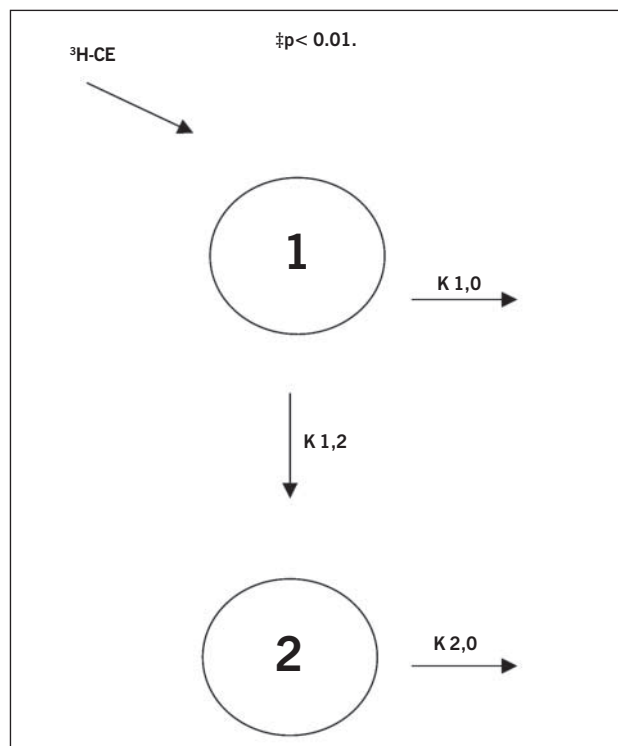


Fig. 1 - Modelo compartimental utilizado para demonstrar a cinética plasmática dos quilomícrons artificiais.

A TFR-CE e os tempos de residência no plasma, como demonstrado na tabela I, não se alteraram após o tratamento ($p=0,85$).

Discussão

A hipertensão arterial é um dos mais importantes fatores de risco para a aterosclerose e a doença arterial coronariana, e seu tratamento tem se mostrado benéfico na prevenção destas patologias. Como a dislipidemia está freqüentemente associada à hiper-

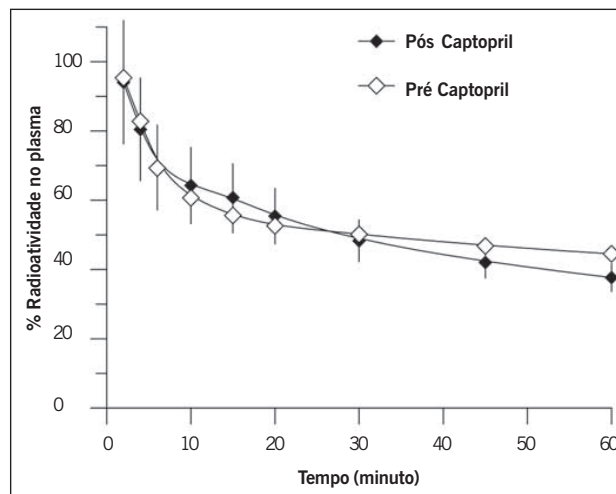


Fig. 2 - Curva de decaimento plasmático da emulsão radioativa obtida dos pacientes antes e após o tratamento com captopril.

tensão arterial e também é um forte preditor de risco para a doença arterial coronariana, é válido assumirmos que fármacos anti-hipertensivos não devam trazer efeitos indesejáveis ao perfil lipídico.

Neste estudo, utilizando-se o teste da emulsão lipídica artificial, demonstramos que o tratamento com um inibidor da ECA (captopril), em pacientes hipertensos e hipercolesterolêmicos e, portanto, com maior predisposição à aterosclerose, não provoca retenção dos remanescentes de quilomícrons (partículas aterogênicas) na circulação. Semelhante aos quilomícrons secretados na linfa pelo intestino, o metabolismo da emulsão consiste de duas etapas: 1) lipólise pela enzima lipase lipoproteica; 2) remoção dos remanescentes de quilomícrons pelo fígado. O colesterol esterificado da emulsão, que reproduz a cinética plasmática das partículas da emulsão, permanece no interior da partícula no compartimento plasmático¹⁵, enquanto os triglicérides são continuamente removidos das partículas da emulsão por ação da lipase lipoproteica, refletindo o processo lipolítico¹⁶. Neste trabalho, devido à marcação radioativa ter sido feita apenas no éster de colesterol da emulsão, mas não nos triglicérides, o processo lipolítico não foi estudado. Porém, a dupla marcação não seria necessária: quando a lipólise está diminuída, as partículas da emulsão, semelhante aos quilomícrons da linfa, são removidas mais lentamente. Um eficiente processo de lipólise é necessário para uma eficaz remoção do plasma^{10,15,16}. Como não houve diferença entre a cinética plasmática do éster de colesterol da emulsão, podemos assumir que a lipólise também não se alterou com o tratamento.

É importante ressaltar que em pacientes normolipidêmicos com doença arterial coronariana, a remoção dos quilomícrons do plasma está atenuada^{6,17,18}. O papel dos remanescentes de quilomícrons na aterogênese tem sido investigado¹⁹ e a lipemia pós-prandial foi associada com a doença arterial coronariana em humanos, através do teste de sobrecarga oral de gordura. Simpson e cols.²⁰, Groot e cols.¹⁷ e Patsch e cols.²¹ registraram aumento da concentração de triglicérides pós-prandial e/ou vitamina A em pacientes com doença arterial coronariana. Simons e cols.¹⁸ registraram elevação de apoB48 em coronariopatas. Retinil éster e apoB48 (forma de apoB encontrada nos quilomícrons) são usados como marcadores de quilomícrons na circulação. Maranhão e cols.⁶, utilizando a mesma emulsão lipídica empregada neste es-



tudo para avaliar o metabolismo de quilomícrons, encontraram remoção diminuída da circulação de ambos, éster de colesterol e triglicérides, indicando que tanto a lipólise quanto a remoção dos remanescentes estão diminuídas nos pacientes que desenvolvem a doença arterial coronariana.

Previamente, Iaina e cols.²² demonstraram que a área sob a curva da concentração plasmática pós-prandial do retinil éster, usado como marcador dos remanescentes de quilomícrons, foi reduzido após 25 a 75 mg/dia de captopril durante 3 meses. Esse achado sugere que a retenção de remanescentes de quilomícrons no plasma diminuiu após o tratamento com captopril. Esse efeito é possivelmente anti-aterogênico, como sugerido pela associação entre doença arterial coronariana e remoção reduzida de remanescentes^{6,17,19}. Em nosso estudo, embora o uso de captopril não promovesse remoção mais rápida dos remanescentes de quilomícrons, a observação de que a droga não altera a cinética dos remanescentes evidencia a segurança deste fármaco em relação ao metabolismo de quilomícrons. Adicionalmente, e como em outros estudos, esta terapêutica resultou em redução dos níveis de LDL-c, efeito anti-aterogênico muito bem documentado. O fato do captopril não alterar os valores de triglicérides, HDL-c e Lp(a) também evidencia que este agente não é deletério ao perfil lipídico.

As diferenças encontradas entre nossos resultados e aqueles por Iaina e cols.²² podem ser atribuídos ao fato dos pacientes deste estudo serem hipercolesterolêmicos e não diabéticos. Naquele estudo, os indivíduos supostamente apresentavam resistência insulínica, como sugerido pelos níveis de glicose do plasma, que melhorou com o tratamento com captopril. Em nosso estudo, pacientes com glicemia em jejum ≥ 110 mg/dL eram excluídos.

Os prováveis mecanismos implicados na apresentação destes resultados residem, primeiramente, no fato dos receptores de LDL, que se mostram defeituosos em presença de hipercolesterolemia, também serem os responsáveis pela remoção dos remanescentes de quilomícrons da circulação. Em segundo lugar, a ação da enzima lipase lipoprotéica, resultando na geração dos remanescentes, também influencia a remoção dos quilomícrons, e sua função é dependente dos níveis de insulina^{23,24}. Naquele estudo, a queda da resistência insulínica, alcançada pelo uso de captopril, poderia ter ocasionado a melhora na depuração do retinil palmitato.

Em conclusão, neste trabalho, o captopril, na posologia de 50 mg/dia, administrado a pacientes hipertensos e hipercolesterolêmicos, não alterou o metabolismo dos quilomícrons e seus remanescentes nem provocou alterações prejudiciais nos lípidos plasmáticos e apolipoproteínas AI e B.

Referências

- Krone W, Nagele H. Effects of antihypertensives on plasma lipids and lipoprotein metabolism. *Am Heart J* 1988; 116: 1729-1734.
- Lithell H. Effect of anti-hypertensive drugs on insulin, glucose and lipid metabolism. *Diabetes Care* 1991; 14: 203-209.
- Ferrara LA, Marino LD, Russo O, et al. Doxazosin and captopril in mildly hypercholesterolemic hypertensive patients. The Doxazosin-Captopril in Hypercholesterolemic Hypertensive Study. *Hypertension* 1993; 21: 97-104.
- Cooper AD. Hepatic uptake of chylomicron remnants. *J Lipid Res* 1997; 38:2173-2192.
- Mahley RW, Ji ZS. Remnant lipoprotein: key pathways involving cell-surface heparan sulfate proteoglycans and apolipoprotein E. *J Lipid Res* 1999; 40: 1-16.
- Maranhão RC, Feres MC, Martins MT, et al. Plasma kinetics of a chylomicron-like emulsion in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1996; 126:15-25.
- Bernardes-Silva H, Toffoletto O, Bortolotto LA, et al. Malignant hypertension is accompanied by marked alterations in chylomicron metabolism. *Hypertension* 1995; 26: 1207-1210.
- Borba EF, Bonfa E, Vinagre CG, et al. Chylomicrons metabolism is markedly altered in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2000; 43:1033-1040.
- Vinagre CG, Stolf NA, Bocchi E, et al. Chylomicron metabolism in patients submitted to cardiac transplantation. *Transplantation* 2000; 69 (4): 532-537.
- Santos RD, Ventura LI, Sposito AC, et al. The effects of gemfibrozil upon the metabolism of chylomicron-like emulsions in patients with endogenous hypertriglyceridemia. *Cardiovasc Res* 2001; 49: 456-465.
- Sposito AC, Maranhão RC, Vinagre CG, et al. Effects of etofibrate upon the metabolism of chylomicron-like emulsions in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2001; 154:455-461.
- Joint National Committee. VI report of the Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. 1997; NIH, nº 98: 4080.
- Oliveira HCT, Hirata MH, Redgrave TG, et al. Competition between chylomicrons and their remnants for plasma removal: a study with artificial emulsion models of chylomicrons. *Biochim Biophys Acta* 1988; 958: 211-217.
- Mesquita CH. Análise compartimental auxiliar. São Paulo: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN). Publicações IPEN 1994.
- Redgrave TG, Maranhão RC. Metabolism of protein-free lipid emulsion models of chylomicrons in rats. *Biochim Biophys Acta* 1985; 835:104-112.
- Redgrave TG, Ly HL, Quintão ECR, et al. Clearance from plasma of triacylglycerol and cholesteryl ester after intravenous injection of chylomicron-like emulsions in rats and man. *Biochem J* 1992; 293: 843-847.
- Groot PHE, van Stiphout WAHJ, Krauss XH, et al. Post-prandial lipoprotein metabolism in normolipidemic men with and without coronary artery disease. *Arteriosclerosis Thromb* 1991; 11: 653-662.
- Simons LA, Dwyer T, Simons J, et al. Chylomicrons and chylomicron remnants in coronary artery disease: a case-control study. *Atherosclerosis* 1987; 65: 181-189.
- Zilversmit DB. Atherosclerosis: A post-prandial phenomenon. *Circulation* 1979; 60:473-485.
- Simpson HS, Williamson CM, Olivecrona T, et al. Postprandial lipemia, fenofibrate and coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1990; 85: 193-202.
- Patsch JR, Miesenböck G, Hopferwieser T, et al. Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. Studies in the post-prandial state. *Arteriosclerosis Thromb* 1992; 12: 1336-1345.
- Iaina A, Silverberg DS, Wollman Y, et al. Post-prandial intestinal-derived chylomicron and chylomicron remnants in essential hypertensive patients before and after prolonged captopril therapy. *Am J Hypertens* 1995; 8: 34-39.
- Deshaias I, Geloan A, Paulin A, et al. Restoration of lipoprotein lipase activity in insulin-dependent rats by insulin infusion is tissue specific. *Can J Physiol Pharmacol* 1991; 69: 746-751.
- Pollare T, Vessby B, Lithell H. Lipoprotein lipase activity in skeletal muscle is related to insulin sensitivity. *Arterioscler Thromb* 1991; 11: 1192-1203