UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
MESTRADO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

Perfil lipídico e correlação entre concentração e atividade de Lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT) em plasma de pacientes com esquistossomose mansônica hepatointestinal e hepatoesplênica

GISELLE RABELO MACIEL

Orientadora: Profa. Dra. Vera Lúcia de Menezes Lima
Colaboração: Profa. Vera Cristina Oliveira de Carvalho
Dra. Ana Lúcia Coutinho Domingues

Recife, 2009

GISELLE RABELO MACIEL

Perfil lipídico e correlação entre concentração e atividade de Lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT) em plasma de pacientes com esquistossomose mansônica hepatointestinal e hepatoesplênica

Dissertação apresentada para o cumprimento parcial das exigências para obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco.

Orientadora: Profa. Dra. Vera Lúcia de Menezes Lima
Colaboração: Profa. Vera Cristina Oliveira de Carvalho
Dra. Ana Lúcia Coutinho Domingues

Recife, 2009

Maciel, Giselle Rabelo

Perfil lipídico e correlação entre concentração e atividade de Lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT) em plasma de pacientes com esquistossomose mansônica hepatointestinal e hepatoesplênica / Giselle Rabelo Maciel. – Recife: O Autor, 2009.

40 folhas: fig.; tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Departamento de Bioquímica e Fisiologia, 2009.

Inclui bibliografia e anexo.

1. Perfil lipídico 2. Lecitina 3. Esquistossomose mansônica 4. Schistosoma mansoni I Título.

577.115 CDU (2.ed.) UFPE
572.57 CDD (22.ed.) CCB – 2009- 71

GISELLE RABELO MACIEL

"Perfil lipídico e correlação entre concentração e atividade de lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT) em plasma de pacientes com esquistossomose mansônica hepatointestinal e hepatoesplênica"

Dissertação apresentada para o cumprimento parcial das exigências para obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco

Aprovado por:

Profa. Dra. Vera Lúcia de Menezes Lima - Presidente

Profa. Dra. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho–Examinador interno

Profa. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia – Examinador Interno

Prof. Dr. César Augusto da Silva – Examinador Externo

Ao meu marido pelo apoio e incentivo e ao novo ser que está ser formando dentro de mim.

SUMÁRIO

	Página
Agradecimentos	I
Lista de Figuras	II
Lista de Tabelas e Anexo	III
Lista de Abreviaturas	IV
Resumo	V
Abstract	VI
1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	17
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
4. RESULTADOS	
Níveis plasmáticos da Lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT, E.C. 2.3.1.43) em pacientes com esquistossomose mansônica.	23
5. CONCLUSÕES	36
6. ANEXO	37

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por sempre está sempre ao meu lado e nunca me deixar fraquejar.

Agradeço ao meu marido pelo seu amor, apoio e companheirismo.

Agradeço à minha mãe por sempre acreditar e olhar por mim.

Aos meus irmãos, Artur e Mônica, e ao meu cunhado George pelo grande incentivo.

À Prof[a]. Dra. Vera Lúcia de Menezes Lima, minha orientadora, responsável pela subida de mais um degrau em minha vida profissional, por sempre está à minha disposição e pela confiança depositada em meu trabalho.

À Prof[a]. Vera Cristina Oliveira de Carvalho por sempre me ajudar nos ensaios devido aos meus horários e sempre colaborar em tudo.

À Dra. Ana Lúcia Coutinho Domingues, do Hospital das Clínicas (UFPE), pela disponibilização de seus pacientes com esquistossomose.

Ao Prof. Dr. Daniel Pedro Udrisar, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia (UFPE), por permitir a utilização do analisador de cintilação líquida.

Ao Departamento de Bioquímica por possibilitar o desenvolvimento deste trabalho.

A todos os componentes do Laboratório de Lipídeos pela ajuda mútua e amizade.

A Albérico, técnico do Laboratório de Lipídeos, e Seu João, pelas infinitas placas de sílica para a realização da cromatografia de camada fina.

A todos funcionários do departamento de Bioquímica, em especial, Djalma, Miron e Neide, por sempre estarem dispostos a ajudar.

Ao CNPq, CAPES e FACEPE por todo suporte financeiro.

LISTA DE FIGURAS

1. INTRODUÇÃO Página

Figura 1	Distribuição global do S. mansoni (WHO, 1987).	10
Figura 2	Áreas endêmicas da esquistossomose mansônica (MS, 2005).	11
Figura 3	Ciclo de vida do *Schistosoma mansoni* (PRATA, 2005).	12
Figura 4	Reação catalisada pela LCAT (LIMA *et al*., 2004).	15

4. RESULTADOS

4.1 Níveis plasmáticos da Lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT, E.C. 2.3.1.43) em pacientes com esquistossomose mansônica.

Figura 1	Correlação entre atividade da LCAT (%CE/h) e sua concentração (μg/mL) na população total (controles e pacientes).	32
Figura 2	Correlação entre atividade da LCAT (%CE/h) e sua concentração (μg/mL) em pacientes na fase HI.	32
Figura 3	Correlação entre atividade da LCAT (%CE/h) e sua concentração (μg/mL) em pacientes na fase HEC.	32

LISTA DE TABELAS

4. RESULTADOS Página

4.1 Níveis plasmáticos da Lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT, E.C. 2.3.1.43) em pacientes com esquistossomose mansônica.

Tabela 1	Perfil lipídico do sexo masculino de controles e pacientes portadores de Esquistossomose mansônica.	29
Tabela 2	Perfil lipídico do sexo feminino de controles e pacientes portadores de Esquistossomose mansônica.	29
Tabela 3	Níveis plasmáticos de colesterol livre e esterificado em pacientes com *S. mansoni* e camundongos e *Callithrix jaccus* infectados experimentalmente.	30
Tabela 4	Atividade plasmática da LCAT e sua concentração em pacientes com esquistossomose mansônica.	31

LISTA DE ANEXO

Página

1. Instruções para autores – Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 38

LISTA DE ABREVIATURAS

CE – Colesterol éster

CL – Colesterol livre

DTNB – Ácido 5,5’-ditiobis-2-nitrobenzóico

EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético

ELISA – Enzime Linked Immuno Sorbent Assay

HDL – Lipoproteína de alta densidade

HEC – Hepatoesplênica compensada

HED – Hepatoesplênica descompensada

HI – Hepatointestinal

LCAT – Lecitina: colesterol aciltransferase

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

MS – Ministério da Saúde

VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade

WHO – World Health Organization

RESUMO

A esquistossomose mansônica, doença causada pelo helminto *Schistosoma mansoni* afeta cerca de 200 milhões de pessoas em todo o mundo. Decorrente da deposição de ovos do parasita no fígado, a doença pode evoluir da forma mais leve, hepatointestinal (HI), para a mais grave, hepatoesplênica (HEC). Estudos anteriores demonstram uma relação entre o metabolismo lipídico e a forma hepatoesplênica da parasitose, tais como: diminuição dos níveis plasmático de colesterol total, colesterol esterificado e triglicerídeos, aumento dos níveis de fosfolipídeos em pacientes e em primatas não humanos da espécie *Callithrix jacchus* e alterações na atividade da lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT). A LCAT, enzima esterificante do colesterol, é uma glicoproteína sintetizada pelo fígado e exerce importante papel no metabolismo das lipoproteínas plasmática, especialmente na síntese e maturação das HDL circulantes. Neste trabalho, foi avaliada a concentração plasmática e a atividade da LCAT, bem como o perfil lipídico dos pacientes portadores da esquistossomose mansônica nas fases HI e HEC. Os resultados demonstram, em comparação aos indivíduos saudáveis, uma redução significativa nos níveis de colesterol total, colesterol HDL e colesterol éster, bem como na atividade e na concentração da LCAT em pacientes na fase mais crítica da doença. Esta diminuição da atividade catalítica da enzima pode estar associada à redução na síntese e/ou secreção da enzima, uma vez que a LCAT é produzida no fígado, o qual é bastante afetado na esquistossomose. Os resultados sugerem uma correlação direta entre a concentração da enzima LCAT e sua atividade.

Palavras-chaves: Esquistossomose mansônica, perfil lipídico, concentração LCAT, atividade LCAT.

ABSTRACT

Schistosomiasis, a disease caused by helminth *Schistosoma mansoni* affects about 200 million people worldwide. Due to deposition of eggs of the parasite in the liver, the disease may progress to a more mild, hepatointestinal (HI), for the most severe, hepatosplenic (HS). Previous studies show a relationship between lipid metabolism and the hepatosplenic form of the parasite, such as: reduction of plasma levels of total cholesterol, cholesterol ester and triglycerides, increased levels of phospholipids in patients and in non-human primates of the species and changes in Callithrix jacchus activity of lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT). The LCAT, enzyme esterificante of cholesterol, is a glycoprotein synthesized by the liver and is important in the metabolism of plasma lipoproteins, especially in the synthesis and maturation of circulating HDL. This work was evaluated the plasma concentration and activity of LCAT, and lipid profile of patients of schistosomiasis mansoni during HI and HS. The results show, compared to healthy subjects, a significant reduction in levels of total cholesterol, HDL cholesterol and cholesterol ester, and the activity and the concentration of LCAT in patients in the most critical stage of the disease. This decrease in catalytic activity of the enzyme may be associated with reduction in synthesis and / or secretion of the enzyme, since LCAT is produced in the liver, which is highly affected in schistosomiasis. The results suggest a direct correlation between the concentration of LCAT enzyme and its activity.

Keywords: Schistosomiasis, lipid profile, LCAT concentration, LCAT activity.

1. INTRODUÇÃO

A bilhardíase, atualmente esquistossomose, foi descrita pela primeira vez no Egito por Theordor Bilhartz (1851), que encontrou ovos de *schistosoma* em múmias egípcias. Desde então, a doença tem sido uma das parasitoses tropicais de importância em saúde pública mais estudada e combatida no mundo (MARQUES, 1994).

Em 1º de Agosto de 1908, no estado da Bahia, Brasil, o médico Manoel Augusto Pirajá da Silva publicou no jornal científico "Brasil Médico" o primeiro trabalho relatando a esquistossomose no país. Neste trabalho, ele descreveu uma doença que atingia os intestinos de um indivíduo que eliminava junto às fezes ovos que apresentavam espículo lateral semelhante aos descritos por Manson. (KATZ, 2008).

Atualmente a enfermidade afeta cerca de 200 milhões de pessoas no mundo dos quais 120 milhões são indivíduos sintomáticos e 20 milhões portadores da forma mais severa da doença. Destes, a grande maioria está localizada nos continentes africano e americano (Figura 1). Estima-se que 650 milhões de pessoas em todo o mundo vivam em áreas endêmicas, abrangendo 74 países atingidos pela parasitose (WHO, 2007).

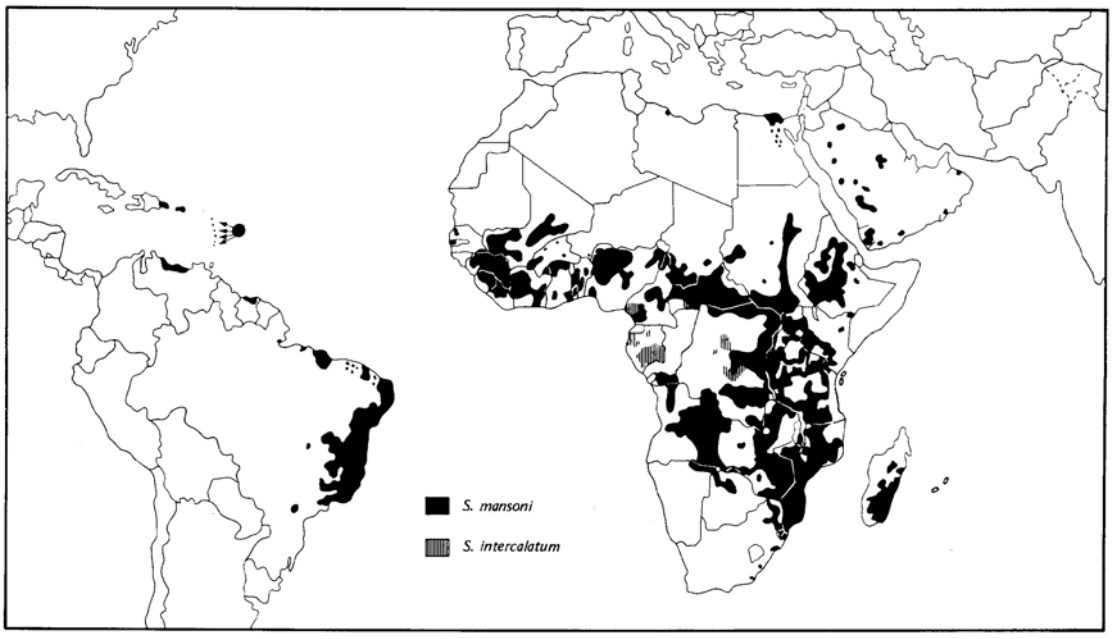

Figura 1: Distribuição global do *S. mansoni* (BLANCHARD, 2004).

No Brasil, a transmissão ocorre em 19 estados, numa faixa contínua ao longo do litoral, desde o Rio Grande do Norte até a Bahia, na região Nordeste, alcançando o interior do Espírito Santo e Minas Gerais, no Sudeste. De forma localizada, está

presente nos estados do Ceará, Piauí e Maranhão, no Nordeste; Pará, na região Norte; Goiás e Distrito Federal, no Centro-Oeste; São Paulo e Rio de Janeiro, no Sudeste; Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, na região Sul (Figura 2). Atualmente, as prevalências mais elevadas são encontradas nos estados de Alagoas, Pernambuco, Sergipe, Minas Gerais, Bahia, Paraíba e Espírito Santo (MS, 2005).

Figura 2: Áreas endêmicas da esquistossomose mansônica, (MS, 2005).

A parasitose é historicamente endêmica nas áreas rurais de Pernambuco com uma infecção humana variando de 12 a 82% dependendo da localidade (FAVRE *et al*., 2001). A falta de trabalho nas cidades do interior leva a um êxodo rural para áreas urbanas onde indivíduos infectados contaminam os caramujos que habitam as águas doces destas áreas (BARBOSA *et al*, 2004).

Causada por helmintos do gênero *Schistosoma*, este é formado pelas espécies: *S. mansoni*, *S. haematobium*, *S. intercalatum*, *S. japonicum*, *S. mekonki* e, mais recentemente, *S. matthei* e *S. malaynis* (McMANUN e HOPE, 1993). Destas espécies que parasitam o homem, somente a *mansoni* existe na América e é a responsável pela esquistossomose no Brasil (WHO, 1987).

O ciclo de transmissão da doença, numa região, depende da existência dos moluscos, os hospedeiros intermediários, os. No Brasil, as três espécies, por ordem de importância, envolvidas na transmissão da doença são: *Biomphalaria glabrata, Biomphalaria straminea e Biomphalaria tenagophila*, dos quais os dois primeiros estão presentes na região Nordeste (GERKEN, 1975; MS, 2005). O *B. glabrata* apresenta alta suscetibilidade à infecção pelo *S. mansoni* devido, principalmente, ao seu maior

tamanho, melhor adaptação ao parasita, maior sobrevida e maior número de larvas infectantes eliminadas (MALAGUENÕ e SANTANA, 1994).

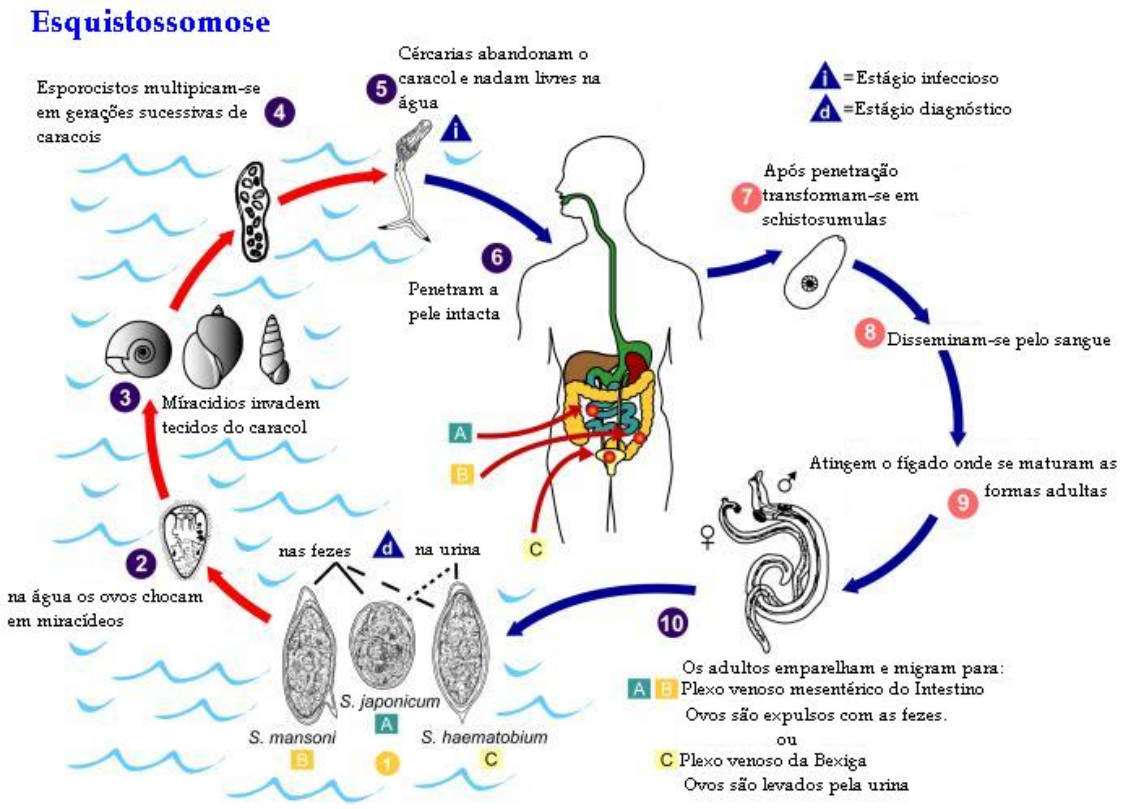

Figura 3: Ciclo de vida do *Schistosoma mansoni* (Secretaria de Estado de Saúde de São Paulo, 2004).

Conforme demonstrado na figura 3, os ovos do parasita (fase 1) são eliminados junto com as fezes dos portadores da verminose contaminando a água pela liberação de uma larva denominada miracídeo (fase 2). Penetrando no molusco, o miracídeo inicia a fase de desenvolvimento intramolusco (fase 3) e, em dois dias, já se transforma em esporocisto materno ou primário (fase 4). As células germinativas se multiplicam e os esporocistos-filhos ou secundários começam a aparecer a partir do 4º dia, migrando, entre o 18º e o 20º dia, para a glândula digestiva do molusco. Em 20 a 30 dias, tem início a eliminação das cercárias (fase 5). Estas se fixam sobre a pele ou mucosa do hospedeiro, através da sua ventosa oral, e com movimentos ativos e o auxílio de substâncias líticas, nelas penetram em 2 a 15 minutos infectando agora o hospedeiro definitivo, homem ou outro mamífero (fase 6). Após penetração, em três horas as cercárias se transformam em esquistossômulos (fase 7), os quais permanecem três a

quatro dias na pele. Com o auxílio de enzimas líticas, penetram nos vasos linfáticos e sanguíneos (fase 8), indo ao coração, e a partir do 4º dia se encalham nos pulmões. Adquirem mobilidade, se alongam e, a partir do nono dias, os esquistossômulos são vistos no fígado (fase 9). No 27º dia existem vermes acasalados e a postura pode começar no 30º dia com uns poucos ovos. A partir do 40º dia já se encontram ovos nas fezes (fase 10) (PRATA, 2005).

A maioria das pessoas infectadas pode permanecer assintomática, dependendo da intensidade da infecção; a sintomatologia clínica corresponde ao estágio de desenvolvimento do parasito no hospedeiro. Clinicamente, a esquistossomose pode ser classificada em (MS, 2005):

1. **Fase aguda**
    - **Dermatite cercariana** – corresponde à fase de penetração das larvas (cercárias) através da pele. Varia desde quadro assintomático até apresentação de quadro clínico de dermatite urticariforme, com erupção papular, eritema, edema e prurido, podendo durar até 5 dias após a infecção.
    - **Esquistossomose aguda ou febre de Katayama** – após três a sete semanas de exposição pode aparecer quadro caracterizado por alterações gerais que compreendem: febre, anorexia, dor abdominal e cefaléia. Com menor freqüência, o paciente pode referir diarréia, náuseas, vômitos e tosse seca. Laboratorialmente, o achado da eosinofilia elevada é bastante sugestivo.
2. **Fase crônica –** inicia-se a partir do 6º mês após a infecção, podendo durar vários anos. Nela, podem surgir os sinais de progressão da doença para diversos órgãos, podendo atingir graus extremos de severidade, como hipertensão pulmonar e portal, ascite, ruptura de varizes do esôfago. As manifestações clínicas variam, dependendo da localização e intensidade do parasitismo, da capacidade de resposta do indivíduo ou do tratamento instituído. Apresenta-se por qualquer das seguintes formas:
    - **Tipo I ou forma intestinal** – caracteriza-se por diarréias repetidas que podem ser mucossangüinolentas, com dor ou desconforto abdominal. Porém, pode apresentar-se assintomática;

- **Tipo II ou forma hepatointestinal** – caracteriza-se pela presença de diarréias e epigastralgia. Ao exame físico, o paciente apresenta hepatomegalia, podendo-se notar, à palpação, nodulações que nas fases mais avançadas dessa forma clínica, correspondem a áreas de fibrose decorrentes de granulomatose periportal ou fibrose de Symmers;
- **Tipo III ou forma hepatoesplênica compensada** – caracteriza-se pela presença de hepatoesplenomegalia. As lesões perivasculares intra-hepáticas são em quantidade suficiente para gerar transtornos na circulação portal, com certo grau de hipertensão que provoca congestão passiva do baço. Nessa fase, inicia-se a formação de circulação colateral e de varizes do esôfago, com comprometimento do estado geral do paciente;
- **Tipo IV ou forma hepatoesplênica descompensada** – incluem as formas mais graves de esquistossomose mansônica, responsáveis pelo obituário por essa causa específica. Caracteriza-se por fígado volumoso ou já contraído pela fibrose perivascular, esplenomegalia avantajada, ascite, circulação colateral, varizes do esôfago, hematêmese, anemia acentuada, desnutrição e quadro de hiperesplenismo.

Na esquistossomose mansônica, o fígado é o principal alvo das lesões histológicas, alterações fisiopatológicas e manifestações clínicas (COUTINHO, 1973), em conseqüência da deposição dos ovos do verme nos ramos portais intra-hepático deste órgão (BLANCHARD, 2004). A presença de polimorfonucleares, macrófagos, linfócitos, fibrobastos e fibras reticulares em torno dos ovos ancorados no fígado, culminam com a formação do granuloma hepático esquistossomático, apresentando como uma cicatriz fibrosa de estrutura lamelar (REY, 1991; DOMINGUES, 1998).

Estudos anteriores demonstram uma correlação entre o metabolismo lipídico e à forma hepatoesplênica da esquistossomose mansônica, tais como: diminuição dos níveis plasmático de colesterol total, colesterol esterificado e triglicerídeos e aumento dos níveis de fosfolipídeos em pacientes (GILLETT *et al*., 1976; CECHINEL e OWEN, 1978) e em primatas não humanos da espécie *Callithrix jacchus* (LIMA *et al*., 1998) e alterações na atividade da enzima hepática lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT) (LIMA *et al*., 2004; SILVA, 2001).

A LCAT (E.C.2.3.1.43), enzima esterificante do colesterol, é uma glicoproteína com massa molecular de 65 kDa dos quais um quarto é composta por carboidratos

(LIMA *et al*., 2004). Como a maioria das glicoproteínas, a LCAT é sintetizada no fígado como demonstrado em perfusão de fígado de rato (OSUGA e PORTMAN, 1971); em secreções isoladas dos hepatócitos de rato (NORDBY *et al*., 1976) e a ausência em perfusão de fígado de coelho tratado com colchicina para interromper o processo de secreção (De PARSCAU e FIELDING, 1984).

Através da transferência de um grupamento acil do ácido graxo na posição 2-*sn* da fosfatidilcolina (lecitina) para o grupo 3-β hidroxil do colesterol livre, produzindo colesterol éster e lisofosfatidilcolina (lisolectina) (Figura 4), a LCAT é responsável pela formação de quase todo o colesterol esterificado plasmático em humanos, aproximadamente 75% (PETER *et al*., 2007) . Esta reação ocorre predominantemente nas lipoproteínas de alta densidade (HDL) uma vez que a enzima encontra-se associada a esta ou na forma livre (WANG e SUBBAIAH, 2000) e possui o principal ativador da reação, a apolipoproteína A-I (FIELDING e FIELDING, 1995).

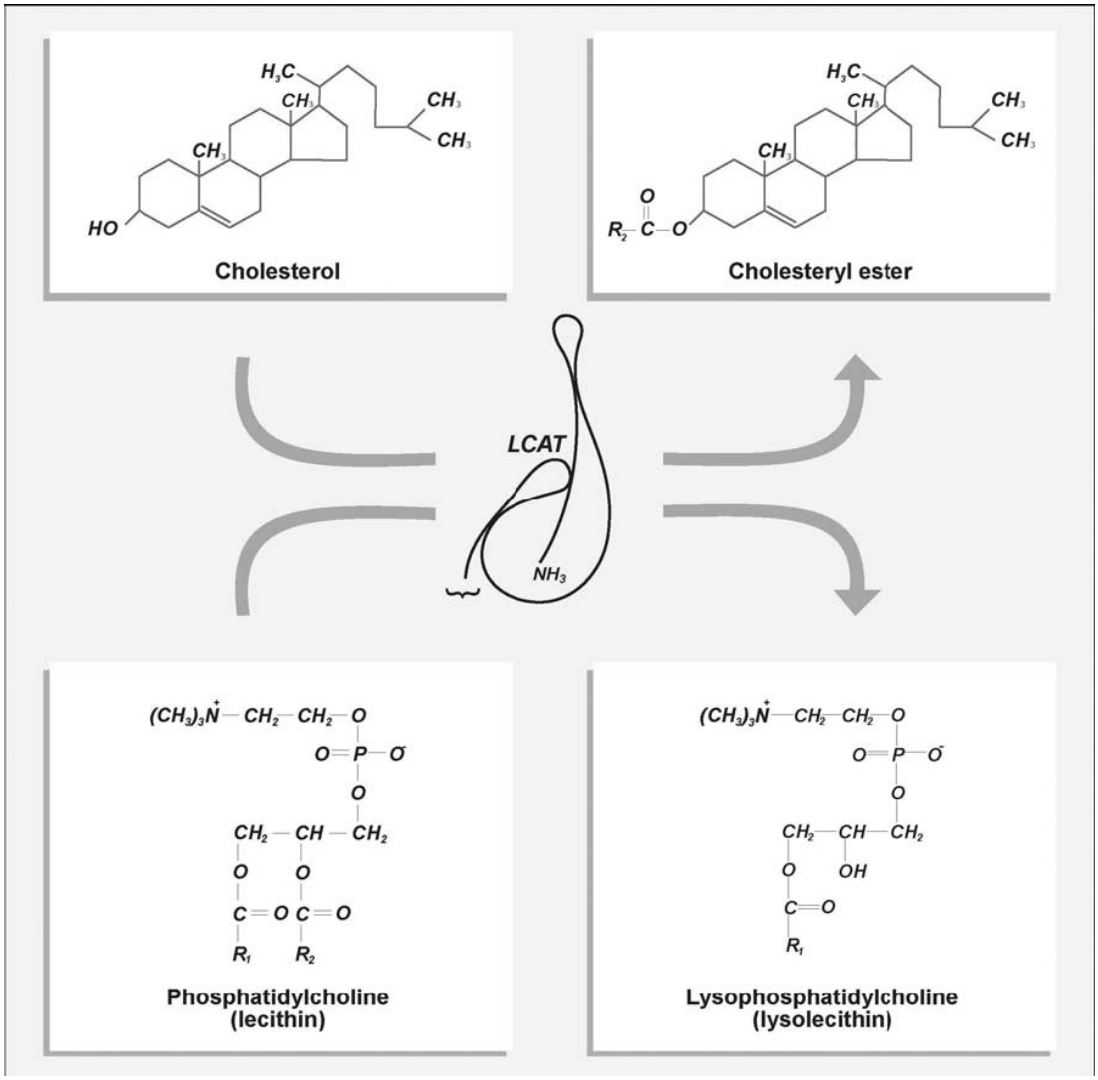

Figura 4: Reação catalisada pela LCAT (LIMA *et al*., 2004).

A LCAT exerce papel importante no metabolismo normal das lipoproteínas plasmáticas (JONAS, 2000). Na etapa inicial da reação, ocorre a transferência do colesterol das membranas celulares dos tecidos periféricos para as HDL nascentes onde o colesterol é então esterificado e armazenado no interior das lipoproteínas de alta densidade e levados ao fígado onde são degradados em ácidos biliares e excretados do organismo (WANG e BRIGGS, 2004; VANCE e Den BOSCH, 2000). O excesso deste colesterol esterificado gerado é transferido preferencialmente para as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e de baixa densidade (LDL) que seguem para o fígado, onde são endocitadas mediante interação com receptores celulares (GUÉRIN *et a*l, 1994; TALL, 1998).

A relação inversa entre a concentração da HDL e o risco de doenças coronarianas tem sido demonstrada por estudos epidemiológicos (ASSNANN e SCHULTE, 1992). Acredita-se que baixos níveis de HDL podem ser conseqüência de alterações ou polimorfismo da LCAT e, que isto estaria associado com aumento na predição de doenças cardíacas coronarianas, haja vista que a proteção antiaterogênica da HDL está envolvida no transporte reverso do colesterol (CALEBRESI *et al*, 2008).

Mutações do gene codificante da LCAT são as responsáveis por duas síndromes metabólicas: a doença do olho-de-peixe a qual a LCAT é inativa na HDL e a deficiência familiar da LCAT que se apresenta por deficiência da atividade enzimática ou por ausência total da enzima acarretando no surgimento de LDL e VLDL ricas em triglicerídeos, anemia, proteinúria e doença renal. Em ambas as síndromes ocorrem também a opacificação da córnea e aumento dos níveis de triglicerídeos (LIMA *et al*., 2004).

Pacientes portadores da esquistossomose mansônica têm demonstrado uma diminuição da atividade da LCAT (GILLETT *et al*., 1976; LIMA *et al,* 1997) bem como uma diminuição nos níveis de colesterol total, principalmente na fração éster, já que o colesterol livre não se apresenta diminuído (GILLETT *et al*, 1976).

O presente trabalho foi elaborado a fim de avaliar o perfil lipídico bem como a concentração plasmática da LCAT em pacientes infectados pelo *Schistosoma mansoni* e correlacionar com sua atividade catalítica.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Investigar o perfil lipídico, a concentração plasmática da LCAT em pacientes portadores de esquistossomose mansônica hepatointestinal e hepatoesplênica, e sua correlação com a atividade desta enzima.

2.2 Objetivos Específicos

- Selecionar indivíduos saudáveis (controles) e pacientes portadores de esquistossomose mansônica.
- Identificar o perfil lipídico dos pacientes e controles: colesterol total, colesterol_HDL, colesterol_LDL e colesterol_VLDL, triglicerídeos, colesterol livre e colesterol esterificado.
- Avaliar a atividade catalítica da LCAT em pacientes e controles.
- Determinar a concentração plasmática da LCAT em pacientes e controles.
- Investigar a correlação entre atividade e concentração da LCAT plasmática.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, J. J.; ADOLPHSON, J. L.; CHEN, C. H. Radioimunoassay of human plasma lecithin: cholesterol acyltransferase. *Journal of Clinical Investigation*, v.67, p.141-148, 1981.

AMARAL, R.S.; TAUIL, P.L.; LIMA, D.D.; ENGELS, D. An analysis of the impact of the Schistosomiais Control Programme in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz,* v. 101 (Suppl. 1), p.79-85, 2006.

ASSMANN, G. and SCHULTE, H. Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary artery disease (the PROCAM experience) Prospective Cardiovascular Munster study. *Americam Journal Cardiology*, v.70, p.733-737, 1992.

BARBOSA, C. S.; ARAÚJO, K. C.; ANTUNES, L.; FAVRE, T.; PIERI, O. S. Spatial Distribution of Schistosomiasis Foci on Itamaracá Island, Pernambuco, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 99 (Suppl. I), p.79-83, Rio de Janeiro, 2004.

BLANCHARD, T. J.; Schistosomiasis. *Travel Medicine and Infectious Disease*, v.2, p.5-11, 2004.

CALABRESI, L.; FAVARI, E. MOLERI, E.; ADORNI, M. P.; PEDRELLI, M.; COSTA, S.; JUSSUP, W.; GELISSEN, I. C.; KOVANEN, P. T.; BERNINI, F.; FRANCESCHINI, G. Function LCAT is not required for macrophage cholesterol efflux to human serum. *Atherosclerosis*. 2008.

CECHINEL, Y. M. N.; OWEN, J. S. O colesterol plasmático na esquistossomose mansônica. *Revista Brasileira de Biologia*, v.38(2), p.339-343, 1978.

COUTINHO, A. Fígado e esquistossomose. *Jornal Brasileiro de Medicina*, Outubro, p.23-41, 1973.

COUTINHO, A. D.; DOMINGUES, A. L.C. Esquistossomose mansoni. *Gastroenterologia Clínica*, vol. 2, 3 ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.1697-1728, 1993.

DOMINGUES, A. L. C. Ultrasonografia na esquistossomose hepato-esplênica: Avaliação da intersidade da fibrose periportal e da hipertensão porta. Recife, 1998. (Tese – Doutorado – Faculdade de Medicina – UFPE).

De PARSCAU, L.; FIELDING, P. E. Lecithin-cholesterol acyltransferase and cholesterol ester transfer activity from the isolated perfused rabbit liver. *Journal of Lipids Research*, v.25, p.721-728, 1984.

FAVRE, T.; PIERI, O.; BARBOSA, C. S.; BECK, L. Avaliação das ações de controle de esquistossomose implementadas entre 1977 e 1996 na área endêmica de Pernambuco, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.34, p.569-576, 2001.

FIELDING, C. J. & FIELDING, P. E. Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *Journal of lipids Research*, v.36, p.211-228, 1995.

GERKEN, S. E. Suscetibilidade de *B. straminea* da região de Lagoa Santa – MG ao *S. mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v.17, p.338-343, 1975.

GILLETT, M. P. T.; OWEN, J. S.; COUTINHO, A. Plasma free and esterified cholesterol in schistosomiasis mansoni. *The Lancet*, v.2, p. 971, 1976.

GUÉRIN, M.; DOLPHIN, P. J.; CHAMPMAN, M. J. A new in vitro method for the simultaneis evalution of cholesteryl ester exchange and mass transfer between HDL and apoB-containing lipoprotein subspecies. Identification of preferential cholesteryl ester acceptors in human plasma. *Arteriosclerosis and Thrombosis*, v.14, p.199-206, 1994.

JONAS, A. Lecithin: cholesterol acyltransferase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids*, v. 1529(1-3), p.245-256, 2000.

KATZ, N. The discovery of Schistosomiasis mansoni in Brazil. *Acta Tropica*, v.108 (2-3), p.60-71, 2008.

LIMA, V. L. M.; CANNIZZARO, H. M.; OWEN, J. S. Isolation and preliminary microheterogeneity studies of lecithin:cholesterol acyltransferase in plasma from individual patients infected with Schistosomiasis mansoni.. *International Hepatology Communications*, v. 6, p. 300-305, 1997.

LIMA, V. L. M.; SENA, V. L. M.; STEWART, B.; OWEN, J. S.; DOLPHIN, P. J. An evaluation of Callithrix jacchus (sagui) as an experimental model for the dyslipoproteinemia of human Schistosomiasis mansoni. *Biochimica Biophysica Acta*, v.1393(3), p.235-243, 1998.

LIMA, V. L. M.; COELHO, L. C.B.B; OWEN, J. S.; KENNEDY, J. F.; DOLPHIN, P.J. Lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) as a plasma glycoprotein: an overview. *Carbohydrate Polymers*, v.55, p. 179-191, 2004.

MARQUES, R. J. Esquistossomose mansônica – Súmula histórica do que tem sido estudado sobre o assunto em Pernambuco. In: MALTA, J. *Esquistossomose mansônica*. 1 ed. Editora universitária, Recife, 1994. 274p. pp. 17-22.

MALAGENÕ, E.; SANTANA, J. V. Etiologia. In: MALTA, J. *Esquistossomose mansônica*. 1 ed. Editora Universitária, Recife, 1994. 274p. pp.26-40.

McMANUN, D. P.; HOPE, M. Molecular variation in the human Schistosomiasis. *Acta Tropica*, v.9, p.286-291, 1993.

McPHERSON, P. A. C.; YOUNG, I. S.; McENENY, J. A dual role for lecithin: cholesterol acyltransferase (EC 2.3.1.43) in lipoprotein oxidation. *Free Radical Biology & Medicine*, v.43, p.1284-1493, 2007.

Ministério da Saúde (MS). Guia de Vigilância Epidemiológica/Secretaria de Vigilância em Saúde, 6ª ed., Brasília, 2005.

NORDBY, G.; BERG, T.; NILSSON, M.; NORUM, K. R. Secretion of lecithin:cholesterol acyltransferase from isolad rat hepatocytes. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.450, p.69-77, 1976.

OSUGA, T.; PORTMAN, O. W. Origin and disappearance of plasma lecthin: cholesterol acyltransferase. American Journal of Physiology, v.220, p.735-741, 1971.

PRATA, A. Esquistossomose mansoni. In: Doenças infecciosas e parasitárias. Rio de Janeiro. Editora Guanabara, p.1695-1719, 2005.

REY, L. Esquistossomose: Epidemiologia e controle. In: Parasitologia. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.389-410, 1991.

Secretaria de Estado de Saúde de São Paulo. Centro de Vigilância Epidemiológica – CVE. São Paulo, 2004. In: www.cve.saude.sp.gov.br/.../IFN_Esquisto.htm

SILVA, C. A.; OLIVEIRA, K. F.; CARVALHO, V.C.O.; DOMINGUES, A. L. C.; BRANDT, C. T.; LIMA, V. L.M. Efeito do tratamento cirúrgico sobre a atividade da enzima hepática lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT) na esquistossomose mansônica. *Acta Cirúrgica Brasileira,* v.17 (Supl. 1), p.28-30, 2001.

TALL, A. R. An overview of reverse cholesterol transport. *European Heart Journal*, v.19, p.A31-A35, 1998.

VANCE, D. E.; den BOSCH, H. V. Cholesterol in the year 2000. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1529, p.1-8, 2000.

WANG, M.; Briggs, M. R. HDL: The metabolism, function and therapeutic importance. *Chemical Review*, v. 104, p.119-137, 2004.

WANG, K.; SUBBAIAH, P. V. Imporyance of the free sulfhydryl groups of lectina:cholesterol acyltransferase for its sensitivity to oxidative inactivation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular an Cell Biology of Lipids*, v.1488(3), p.268-277, 2000.

World Health Organization (WHO). Atlas of the global distribution of Schistosomiasis, 1987.

World Health Organization (WHO). Fact sheet Nº 115, 2007.

4. RESULTADOS

4.1 Níveis plasmáticos da Lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT, E.C. 2.3.1.43) em pacientes com esquistossomose mansônica.

REVISTA DA
SOCIEDADE BRASILEIRA
DE MEDICINA TROPICAL

ISSN 0037-8682

Trabalho para publicação

Revista: Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical

Maciel, G. R.[1], Carvalho, V. C. O.[1], Domingues, A. L. C.[2], Lima, V. L. M.[1*]

[1]Departamento de Bioquímica, CCB – UFPE. [2]Hospital das Clínicas – UFPE

* Correspondente: Lima, V. L. M., Departamento de Bioquímica, CCB – UFPE. Av. Prof. Moraes Rego, s/n – Cidade Universitária, Recife/PE – Brasil. CEP 50670-420.
Fax: + 55 81 21268541
e-mail: vlml@ufpe.br

RESUMO

Na esquistossomose mansônica, parasitose causada pelo helminto *Schistosoma mansoni*, a hepatopatia é a principal lesão da doença, podendo evoluir da forma mais leve, hepatointestinal (HI), para as mais graves, hepatoesplênica (HEC). A lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT), enzima esterificante do colesterol, exerce importante papel no metabolismo normal das lipoproteínas plasmática. Neste trabalho, foi determinado o perfil lipídico dos pacientes nas fases HI e HEC bem como a atividade da LCAT e sua concentração plasmática. Em comparação com o grupo controle os resultados dos pacientes na fase HEC demonstraram uma redução significativa ($p<0,05$) dos níveis plasmáticos de colesterol total e de colesterol HDL. A redução da concentração plasmática da LCAT em portadores da fase HEC foi de 21,5% e 40,0%, enquanto sua atividade diminuiu 39,7% e 60,2% para homens e mulheres, respectivamente. Estatisticamente, houve uma correlação significativa positiva ($p<0,0001$) entre a concentração plasmática da enzima e sua atividade.

Palavras-chave: Esquistossomose mansônica, atividade LCAT, concentração LCAT, Perfil lipídico

ABSTRACT

Schistosomiasis, caused by helminth *Schistosoma mansoni*, the liver is the main lesion of the disease, may develop in the most light, hepatointestinal (HI) for more severe, hepatosplenic (HS). Lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT), the cholesterol esterifying enzyme, carries important role in normal metabolism of plasma lipoproteins. In this work, it was determined the lipid profile of patients in stages HI and HS and the activity of LCAT and its plasma concentration. Compared with the control group the results of patients in stage HS showed a significant reduction ($p < 0.05$) plasma levels of total cholesterol and HDL cholesterol. The reduction in plasma concentration of LCAT in carriers of the HS phase was 21.5% and 40.0%, while its activity decreased by 39.7% and 60.2% for men and women, respectively. Statistically, there was a significant positive correlation ($p < 0.0001$) between the plasma concentration of the enzyme and its activity.

Keywords: Schistosomiasis, LCAT activity, LCAT concentration, lipid profile.

1. Introdução

A esquistossomose mansônica, doença causada pelo helminto *Schistosoma mansoni* afeta cerca de 200 milhões de pessoas em todo o mundo e é sem dúvida um das parasitoses tropicais mais estudada e combatida em saúde pública. Estima-se que 650 milhões de pessoas em todo o mundo vivam em áreas endêmicas, abrangendo 74 países (WHO, 2007). No Brasil, a transmissão ocorre em 19 estados, numa faixa contínua ao longo do litoral desde o Para, na região Norte, até o Rio Grande do Sul, na região Sul (MS, 2005).

Decorrente da deposição de ovos do parasita no fígado, a hepatopatia é a principal lesão da doença, podendo evoluir da forma mais leve, hepatointestinal, para as mais graves, hepatoesplênica a qual está associada à fibrose hepática, hipertensão portal e desenvolvimento de varizes esofageanas (Bica *et al.*, 2000).

Estudos anteriores demonstram correlação entre o metabolismo lipídico e à forma hepatoesplênica da esquistossomose mansônica, tais como: diminuição dos níveis plasmático de colesterol total, colesterol esterificado e triglicerídeos e aumento dos níveis de fosfolipídeos em pacientes (Gillett et al., 1976; Cechinel e Owen, 1978), além de alterações na atividade da enzima hepática lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT) (Lima *et al*., 2004). A LCAT exerce papel importante no metabolismo normal das lipoproteínas plasmáticas (Jonas, 2000) e é responsável pela esterificação do colesterol no plasma usando como substrato as lipoproteínas de alta densidade (HDL), circulando associada a esta lipoproteína ou na forma livre (Wang e Subbaiah, 2000). A determinação da atividade catalítica da LCAT em decorrência da concentração plasmática tem demonstrado ser um indicador confiável da função hepática e tem sido usada como previsor antecipado para rejeições em transplantes de fígado.

Em pacientes portadores de esquistossomose hepatoesplênica foram reportadas reduções de 64% na atividade da LCAT (SILVA, 2001), bem como o aparecimento de isoformas da LCAT com ponto isoelétrico mais ácidas que as dos controles (Lima *et al*, 1997). Contudo, não está claro se a redução na atividade da LCAT está associada também à diminuição em sua concentração plasmática. Portanto, faz-se necessário avaliar a concentração plasmática desta enzima de pacientes portadores da esquistossomose na fase hepatointestinal (HI) e hepatoesplênico compensada (HEC) e sua correlação com a atividade catalítica, bem como sua relação com os lipídeos plasmáticos.

2. Materiais e Métodos

2.1 Material Biológico

Para este trabalho, indivíduos de ambos os sexos e portadores da esquistossomose (30-60 anos) foram distribuídos nos seguintes grupos: 16 homens, sendo 5 na fase HI e 11 na fase HEC e 17 mulheres, sendo 8 HI e 9 HEC e 30 indivíduos saudáveis para o grupo controle, sendo 15 homens e 15 mulheres, da mesma faixa etária. Os pacientes foram selecionados no Departamento de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas – UFPE, e a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética do mesmo hospital (Ofício Nº 290/99 - CEP/CCS; Protocolo 193/99 - CEP/CCS).

Amostras de sangue foram coletas após 12 horas de jejum em tubos contendo EDTA (1mg/mL). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 2.500 x *g*, a 4 ºC, durante 15 minutos, e o plasma foi separado dos elementos figurados do sangue. Parte do plasma foi congelado a -20 ºC para posterior análise da atividade e massa da LCAT.

2.2 Determinação do perfil lipídico plasmático

Plasma fresco foi usado para as dosagens de colesterol total, colesterol_HDL e triglicerídeos utilizando o método enzimático colorimétrico, seguindo procedimentos recomendados pelo fabricante do kit (LABTEST, MG/Brasil). Para o colesterol_LDL e colesterol_VLDL foi utilizada a equação de Friedwal.

A dosagem do colesterol livre foi realizada também por método enzimático colorimétrico, seguindo procedimentos recomendados pelo fabricante do kit (WAKO PURE CHEMICAL INDUSTRIES LTDA, Japão), enquanto o colesterol esterificado foi determinado pela diferença em relação ao colesterol total.

2.3 Determinação da atividade da LCAT

Para a determinação da atividade catalítica da LCAT (%CE/h) foi utilizado o método de Stokke e Norum (1971). Inicialmente, 100µL da amostra foi incubada a 37ºC com 20µL de uma solução de DTNB (1.4 mM) por 30 minutos para inibir a ação da enzima. Em seguida, acrescentou-se 30µL de uma emulsão de albumina humana com [^{14}C]-colesterol (2µCi/mL) e incubado por 4 horas. Por fim, a LCAT foi reativada com a adição de 20µL de 2-mercaptoetanol e incubada por 30 minutos. Para parar a reação acrescentou-se 4mL de clorofórmio:metanol (2:1, v/v) e iniciou-se o processo de extração dos lipídeos. Em seguida, o extrato de lipídeos foi concentrado sob fluxo de N_2 e realizada a cromatografia de camada fina para separar o colesterol livre e esterificado.

Após raspagem da sílica, uma solução cintiladora foi acrescentada as frações de colesteróis e dosada a radioatividade por leitor de cintilação líquida (Packard, modelo TRI-CARB, 2100TR). Todas as solução da reação foram preparadas em Tampão Fosfato de
sódio (0,2 M), pH 7,4. O [^{14}C]-colesterol foi adquirido da Amersham International (UK) e albumina de soro humano da Sigma Chemical Company (USA).

2.4 Determinação da concentração plasmática da LCAT

Para dosagem da LCAT (μg/mL) foi realizado o método de ELISA (*Enzime Linked Immuno Sorbent Assay*) seguindo os procedimentos recomendados pelo fabricante do kit (DAIICHI PURE CHEMICALS C.O. LTDA, Japão).

2.5 Análise estatística

Os resultados foram expressos com MÉDIA±SD (desvio padrão). As diferenças das concentrações de lipídeos entre os grupos foram obtidos por análise de variância (ANOVA). A regressão linear simples foi utilizada para determinar a correlação entre os níveis da concentração plasmática da LCAT e sua atividade catalítica. A significância estatística para as comparações foi $p<0,05$ e utilizado StatView para Windons (EUA, 1998).

3. Resultados e discussões

Os resultados demonstraram que os níveis de colesterol total e colesterol_HDL em pacientes na fase HEC apresentaram-se diminuídos quando comparados ao grupo controle. Conforme demonstrado nas Tabelas 1 e 2, houve redução significativa ($p<0,05$) nos níveis plasmáticos de colesterol total de 14,9% (homens) e 13,5% (mulheres) e de 15,8% (homens) e de 19,4% (mulheres) nos níveis de colesterol_HDL. No entanto, a redução do colesterol_LDL de 12,8% (homens)e 14,7% (mulheres) não foi significativa. Os pacientes da fase HI assemelharam-se aos controles. A diminuição dos níveis de colesterol nos pacientes com esquistossomose parece ser uma característica bem definida da doença, uma vez que alterações na função hepática são comuns em cada fase da doença. Os resultados corroboram os trabalhos publicados anteriormente onde a redução do colesterol total está relacionada com a progressão da doença (Coutinho, 1973; Gillet *et al*., 1976; Cechinel e Owen, 1978; Gillet e Carvalho, 1978) e também confirmadas por infecções experimentais com *S. mansoni* em

camundongos (Owen *et al*., 1978; Gillett e Carvalho, 1978) e *Callithrix jacchus* (sagüi) primata não humano (Lima *et al*., 1998). Esta redução é devido principalmente à diminuição do CE, o principal produto da reação da LCAT (Owen *et al*., 1978).

Tabela 1: Perfil lipídico do sexo masculino de controles e paciente portadores de Esquistossomose mansônica.

Lipídeos (mg/mL)	**Grupos**		
	Controle	**HI**	**HEC**
Colesterol total	171,13±29,91	184,75±18,84	145,64±25,66*
Colesterol HDL	43,93±4,83	42,75±3,76	37,00±6,93*
Colesterol LDL	102,85±29,74	109,76±15,84	89,64±25,98
Colesterol VLDL	26,79±9,48	26,15±29,44	17,51±7,10
Triglicerídeos	133,93±47,38	130,75±24,71	87,54±35,78

Os valores representam a média±SD. * p<0,05.

Neste trabalho, o CL não demonstrou diferenças significativas entre o grupo controle e os pacientes mais graves, HEC, apesar de ter aumentado levemente (2,2%), no entanto, o CE nos infectados apresentou uma redução significativa (p<0,05) de 17,1% corroborando trabalhos anteriores também com esquistossomose mansônica em pacientes clinicamente tratados, com redução significativa de CL (11%) e CE (30%) (Gillett *et al*., 1989). Em *Callithrix jacchus* (sagüi), primata não-humano, foi encontrado aumento de CL (27%) e redução de CE (10%) (Lima *et al*., 1998), contudo em camundongos foi observada redução de CL (25%) e CE (37%) (Owen *et al*., 1978), conforme demonstrado na Tabela 3.

Tabela 2: Perfil lipídico do sexo feminino de controles e paciente portadores de Esquistossomose mansônica.

Lipídeos (mg/mL)	**Grupos**		
	Controle	**HI**	**HEC**
Colesterol total	183,00±26,00	180,75±27,36	158,33±24,72*
Colesterol HDL	50,17±6,94	51,37±15,02	40,44±7,70*
Colesterol LDL	111,75±21,45	110,00±22,54	95,33±19,99
Colesterol VLDL	22,67±11,98	19,27±9,36	23,22±6,39
Triglicerídeos	113,33±59,91	96,37±46,81	116,22±31,87

Os valores representam a média±SD. * p<0,05.

Tabela 3: Níveis plasmático de colesterol livre e esterificado em pacientes com S. mansoni e camundongos e *Callithrix jaccus* infectados experimentalmente.

	Grupos							
	Pacientes[1] (Neste trabalho)		**Patientes** (Gillett *et al*., 1989)		**Camundongos** (Owen *et al*., 1978)		***Callithrix jaccus*** (Lima *et al*., 1998)	
	Controle	Infectado	Controle	Infectado	Controle	Infectado	Controle	Infectado
CL (mMol/L)	1,31±0,28	1,34±0,26	1,37±0,45	1,21±0,31**	0,71±0,04	0,53±0,09***	0,70±0,23	0,89±0,23***
CE (mMol/L)	3,21±0,54	2,66±0,58*	3,22±1,03	2,23±0,64**	1,72±0,06	1,08±0,20***	2,09±0,56	1,46±0,09***

Os valores representam a média±SD. Colesterol livre (CL). Colesterol esterificado (CE).
[1] Grupo homens e mulheres. * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001.

Estudos anteriores têm sugerido que baixos níveis de colesterol_HDL podem ser conseqüência de alterações ou polimorfismo da LCAT, a qual exerce papel importante na síntese e maturação desta lipoproteína, e, que isto estaria associado com aumento na predição de doenças cardíacas coronarianas, uma vez que a proteção antiaterogênica da HDL está envolvida no transporte reverso do colesterol (Calebresi *et al*, 2008). O aparecimento de lipoproteínas de alta densidade anormais tem sido demonstrado em pacientes com comprometimento hepático, como na cirrose, as quais estão relacionadas com alterações celulares como impedimento na agregação plaquetária (Desai *et al*., 1989b), interferência na interação de LDL com receptores celulares (endocitose) (Owen *et al*., 1985) e inibição da proliferação de linfócitos (Horton e Owen, 1990).

Os resultados sugerem que a redução do colesterol total e esterificado em pacientes com esquistossomose mansônica é devido à baixa atividade da LCAT, característica desta infecção como também em outras doenças do fígado (Gillett *et al*., 1976). Hipocolesterolemia acompanhada por baixos níveis de colesterol esterificado e aumento de colesterol livre é uma das principais anormalidades no metabolismo lipídico em pacientes infectados com *Schistosoma mansoni* (Lima *et al*., 1998).

Os nossos resultados demonstraram redução significativa (p<0,0001) na atividade da LCAT (%CE/h) nos pacientes na fase HEC quando comparados aos controles, a qual diminuiu para 3,75 %CE/h (39,7%) e para 2,23 %CE/h (60,2%) em homens e mulheres, respectivamente. Com relação ao grupo HI apenas as pacientes do sexo feminino apresentaram redução significativa 3,70 %CE/h (34%) na atividade da LCAT (Tabela 4), provavelmente devido ao grau de fibrose II em que a maioria das pacientes se encontravam (5 do total do grupo de 8), no entanto, o grupo masculino apenas 1

apresentava este grau de fibrose. O restante de ambos os grupos apresentava grau de fibrose I.

Tabela 4: Atividade plasmática da LCAT e sua concentração em pacientes com esquistossomose mansônica.

	Grupos			
	MASCULINO		**FEMININO**	
	Atividade (%CE/h)	[LCAT] (μg/mL)	Atividade (%CE/h)	[LCAT] (μg/mL)
Controle	6,22±0,60	7,45±0,80	5,61±0,38	7,21±0,83
HI	6,06±0,77	7,29±0,62	3,70±0,85*	5,04±1,04*
HEC	3,75±0,64*	5,85±1,36**	2,23±0,63*	4,32±0,61*

*p<0,0001, ** p <0,05.

Estudos anteriores em paciente infectados com o parasita também demonstraram uma redução significativa de 6,14 %CE/h (controles) para 2,21 %CE/h (pacientes) (SILVA, 2001). Owen *et al.* (1978) também demonstraram redução para 2,09 %CE/h da atividade da LCAT. Esta diminuição poderia estar associada à redução na síntese e/ou secreção da enzima, ou ainda, a seus substratos colesterol livre e lecitina, uma vez que a LCAT é produzida no fígado, o qual é bastante afetado na esquistossomose. Por outro lado, também pode ser conseqüência de uma rápida remoção da LCAT da circulação (Lima *et al*., 1988).

Ainda na Tabela 4, observa-se uma redução significativa ($p<0,0001$) da concentração plasmática da LCAT no grupo feminino de 30% e 40% nas fases HI e HEC, respectivamente. Com relação ao grupo masculino, houve redução significativa ($p<0,05$) apenas para a fase HEC (21,5%). Nota-se que os resultados da atividade da LCAT acompanham os da concentração plasmática e que existe uma correlação entre eles. Segundo Alberts *et al*. (1981), a baixa concentração plasmática da LCAT pode ser também usada para avaliar a progressão da doença hepática, valores normais de 6,14μg/mL.

Diante da regressão simples (Figura 1) fica confirmada uma correlação significativa ($p<0,0001$) de $r^2= 0,62$ para a população total deste trabalho. E quando analisamos os grupos de doentes separadamente esta correlação continua ($p<0,05$), para a fase HI o $r^2= 0,51$ e para a HEC o $r^2= 0,41$ (Figura 2 e 3).

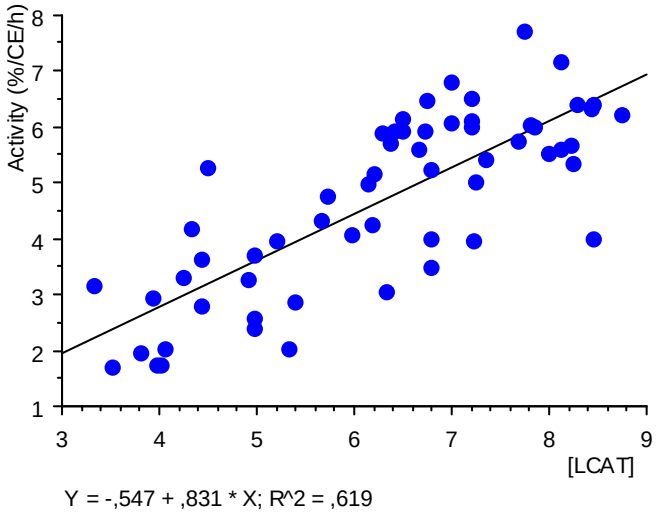

Figura 1: Correlação entre atividade da LCAT (%CE/h) e sua concentração (µg/mL) na população total (controles e pacientes).

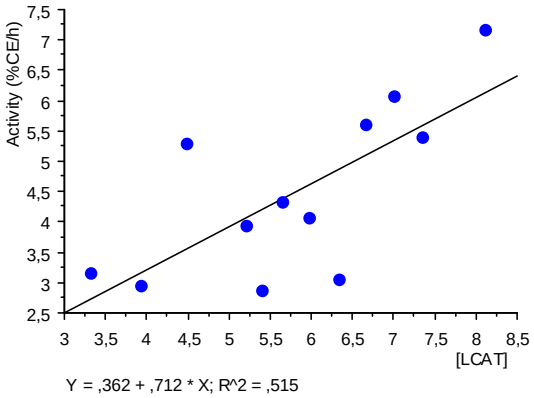

Figura 2: Correlação entre atividade da LCAT (%CE/h) e sua concentração (µg/mL) em pacientes na fase HI.

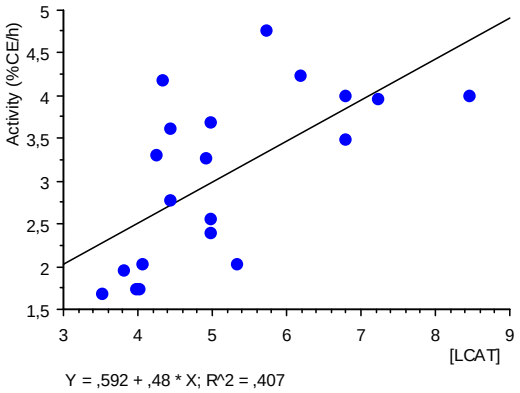

Figura 3: Correlação entre atividade da LCAT (%CE/h) e sua concentração (µg/mL) em pacientes na fase HEC.

Os resultados evidenciam que realmente há uma relação direta positiva entre a concentração da enzima LCAT e sua atividade. Contudo, são necessários estudos complementares de outros fatores que também possam interferir na atividade como o substrato utilizando substrato heterólogo (Glomset e Wright, 1964), uma vez que este estudo foi realizado com substrato autólogo (Stokke e Norum, 1971), como também a integridade da estrutura da LCAT, haja vista que alterações na glicosilação, etapa da síntese das glicoproteínas, como substituição de resíduos de açúcares, resulta na heterogeneidade da estrutura. Seis isoformas da LCAT foram identificadas por estudos de ponto isoelétricos em gel de poliacrilamida (Lima *et al.*, 2004) e suas anormalidades são reportadas em pacientes com esquistossomose hepatoesplênica (Lima *et al.*, 1997).

4. Referências Bibliográficas

ALBERTS, J. J.; ADOLPHSON, J. L.; CHEN, C. H. Radioimunoassay of human plasma lecithin: cholesterol acyltransferase. *Journal of Clinical Investigation*, v.67, p.141-148, 1981.

BICA, I.; HAMER, D. H.; STADECKER, M. J. Hepatic schistosomiasis. *Infectious Disease Clinics of North America*, v.14(3), p.583-604, 2000.

CECHINEL, Y. M. N.; OWEN, J. S. O colesterol plasmático na esquistossomose mansônica. *Revista Brasileira de Biologia*, v.38(2), p.339-343, 1978.

CELEBRESI, L.; FAVARI, E.; MOLERI, E.; ADORNI, M. P.; PEDRELLI, M.; COSTA, S.; JESSUP, W.; GELISSEN, I. C.; KOVANEN, P. T.; BERNINI, F. FRANCESCHINI, G. Functional LCAT is not required for macrophage cholesterol efflux to human serum. *Atherosclerosis*, 2008.

COUTINHO, A. Fígado e esquistossomose. *Jornal Brasileiro de Medicina*, Outubro, p.23-41, 1973.

DESAI, K.; MISTRY, P.; BAGGET, C. BURROUGHS, A. K. BELLAMY, M.F.; OWEN, J. S. Inhibition of platelet aggregation by abnormal high density lipoprotein particles in plasma from patients with hepatic cirrhosis. *The Lancet*, v.i, p.693-695, 1989b.

GILLETT, M. P. T.; OWEN, J. S.; COUTINHO, A. Plasma free and esterified cholesterol in schistosomiasis mansoni. *The Lancet*, v.2, p. 971, 1976.

GILLETT, M. P. T.; CARVALHO, V. C. O. *Schistosoma mansoni:* A comparative study of plasma and erythrocyte lipid alterations in the experimentally infected mouse and in selected human patients. *Experimental Parasitology,* v.44, p.173-180, 1978.

GILLETT, M. P. T.; SIBRIN, A. M. K.; DIMENSTEIN, R.; CARVALHO, V. C. O.; GONÇALVES, M. M. C.; CHAVES-FILHO, M. Alterations in the fatty acyl

composiyion of plasma cholesteryl ester in Brazilian patients with hepatosplenic schistomiasis mansoni. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v.22, p.949-957, 1989.

GLOMSET, J. A.; WRIGHT, J.L. Some properties of a cholesterol esterifying enzyme in human plasma. *Biochimica et Biophysyca Acta*, v.89, p.266-276, 1964.

HORTON, R. C.; OWEN, J. S. LCAT activity as a prognostic liver function test. *The Lancet*, v.336, p.249-250, 1990.

JONAS, A. Lecithin: cholesterol acyltransferase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids*, v. 1529(1-3), p.245-256, 2000.

LIMA, V. L. M.; McINTYRE, N.; OWEN, J. S. Acyltransferase (LCAT) by cultured human hepatoblastoma cell lines. *Journal of Hepatology*, v.7(1), p.S55-S55, 1988.

LIMA, V. L. M.; CANIZZARO, H.M.; OWEN, J. S. Microheterogeneity studies of lecithin-cholesterol acyltransferase in plasma from individual patients infected with Schistosomiasis mansoni. *International Hepatology Communications*, v.6, p.300-305, 1997.

LIMA, V. L. M.; SENA, V. L. M.; STEWART, B.; OWEN, J. S.; DOLPHIN, P. J. An evaluation of Callithrix jacchus (sagui) as an experimental model for the dyslipoproteinemia of human Schistosomiasis mansoni. *Biochimica Biophysica Acta*, v.1393(3), p.235-243, 1998.

LIMA, V. L. M.; COELHO, L. C.B.B; OWEN, J. S.; KENNEDY, J. F.; DOLPHIN, P.J. Lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) as a plasma glycoprotein: an overview. *Carbohydrate Polymers*, v.55, p. 179-191, 2004.

Ministério da Saúde (MS). Guia de Vigilância Epidemiológica/Secretaria de Vigilância em Saúde, 6ª ed., Brasília, 2005.

OWEN, J. S.; COSTA, J. C. M.; CARVALHO, V. C. O.; GILLETT, M. P. T. Effect off experimental schistosomiasis mansoni on plasma and erythrocyte lipids ando n plasma lecithin: cholesterol acyltransferase in the mouse. *Revista Brasileira de Biologia*, v.38(4), p.913-918, 1978.

OWEN, J. S.; BROWN, D. J.; HARRY, D.S.; MCINTYRE, N.; BEAVEN, G. H. L.; ISENBERG, H.; GRATZER, W. B. Erythrocyte echinocytosis in liver disease. Role of abnormal plasma high density lipoproteins. *Journal of Clinical Investigation*, v.76(6), p.2275-2285, 1985.

SILVA, C. A.; OLIVEIRA, K. F.; CARVALHO, V.C.O.; DOMINGUES, A. L. C.; BRANDT, C. T.; LIMA, V. L.M. Efeito do tratamento cirúrgico sobre a atividade da enzima hepática lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT) na esquistossomose mansônica. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.17 (Supl. 1), p.28-30, 2001.

STOKKE, K. T.; NORUM, K. R. Determination of lecitina: colesterol aciltransferase in human blood plasma. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Ingestigation*, v.27, p.21-27, 1971.

WANG, K.; SUBBAIAH, P. V. Imporyance of the free sulfhydryl groups of lectina:cholesterol acyltransferase for its sensitivity to oxidative inactivation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular an Cell Biology of Lipids*, v. 1488(3), p.268-277, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Fact sheet nº 115, 2007.

5. CONCLUSÕES

- Em pacientes portadores da fase HEC houve uma redução significativa positiva nos níveis plasmáticos de colesterol total, colesterol HDL e colesterol esterificado.

- A concentração plasmática bem como a atividade da LCAT em pacientes na fase mais grave da esquistossomose mansônica apresentaram-se reduzidas;

- Há uma correlação significativa positiva entre a concentração e a atividade da LCAT em pacientes portadores de esquistossomose mansônica.

6. ANEXO

1. Instruções para autores – Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical

REVISTA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

ISSN 0037-8682

Objetivo e política editorial

A **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** destina-se à publicação de trabalhos científicos relacionados às doenças infecciosas e parasitárias, medicina preventiva, saúde pública e assuntos correlatos.

A revista tem periodicidade bimestral e aceitará trabalhos de pesquisadores brasileiros ou estrangeiros desde que obedeçam às normas e que sejam aprovados pelos relatores indicados pelos Editores.

1. Além de **Artigos**, a revista publica **Comunicações** para a divulgação de resultados de ensaios terapêuticos, notas prévias, relatórios técnicos, relatos de casos, cartas ao editor, fatos históricos, resenhas bibliográficas e resumos de teses. Artigos de revisão e editoriais serão publicados por solicitação do Corpo Editorial.

2. Os trabalhos devem ser originais e inéditos, digitados em espaço duplo, deixando margem de 3 cm à esquerda e remetidos em três vias ao endereço abaixo, sendo uma a original. Após revisão, pede-se que os trabalhos sejam enviados em disquete, devidamente acompanhados de uma cópia impressa da versão revisada.

Preparação de originais

3. Normas para enviar trabalhos, após revisão, em meio eletrônico; obedecer os seguintes requisitos:

a) podem ser utilizados disquetes MS-DOS compatíveis nos formatos 3 1/2" ou 5 1/4". Disquetes de Macintosh no formato 3 1/2" também serão aceitos. Elimine dos disquetes todos os arquivos não pertinentes ao artigo enviado. Escreva na etiqueta do disquete: título do artigo, nome do autor, nome do arquivo, editor de texto utilizado e nome dos arquivos acessórios (folhas de estilos, gráficos, tabelas etc);

b) envie artigos compatíveis com os seguintes processadores de texto: Word para Windows (versão 6.0 ou anterior), Word para Mac (versão 6.0 ou anterior), outros formatos podem ser aceitos mediante consulta prévia. Nunca envie artigos em formato ASCII (só texto/"text only");

c) ao redigir o texto, o comando de retorno de linha ("Enter") deve ser utilizado exclusivamente no final dos parágrafos. Não adicione espaços extras ou "tabs" ao texto para obter recuo da primeira linha ou centralização de títulos na página. Tampouco retornos ("enters") adicionais para espaçar os parágrafos. Para obter esses efeitos, utilize apenas os comandos de formatação de parágrafo, disponíveis em todos os editores de texto acima;

d) podem ser incluídas tabelas, desde que montadas no próprio editor de texto. Observações e notas de rodapé devem ser, preferencialmente, colocadas após o final do artigo, devidamente numeradas e referenciadas;

e) ilustrações, tabelas e gráficos produzidos em outros programas e "importados" para inclusão no texto devem ser enviados em arquivos anexos, em formatos universais de fácil compatibilidade (TIFF, BMP, PICT, GIF etc). Evite formatos não-padronizados (EPS, WMF etc) e arquivos que só podem ser abertos por programas específicos. De qualquer forma, envie sempre uma cópia bem impressa do gráfico, tabela ou ilustração para eventual reprodução.

4. Os trabalhos devem ser redigidos preferencialmente em português, embora sejam também aceitos trabalhos em inglês e espanhol. A linguagem deve ser clara e precisa, e o texto conciso normalmente não ultrapassando 12 páginas digitadas para **Artigos** e 6 para **Comunicações**.

5. A seguinte seqüência deve ser observada:

a) **título** original e traduzido e nome dos autores em letras minúsculas. No rodapé, instituição onde foi realizado o trabalho, filiação dos autores, quando for o caso, órgão financiador e o endereço completo para correspondência, inclusive telefone, fax e e-mail;

b) **resumo**: máximo de 150 palavras para os artigos e 50 para as comunicações e relatos de casos. Deve ser informativo e não indicativo, apresentando o objetivo do trabalho, como foi realizado, os resultados alcançados e a conclusão. Não usar abreviaturas ou citações bibliográficas. Citar 4 ou 5 palavras-chave, que expressem com precisão o conteúdo do trabalho;

c) ***abstract***: inserido logo após o resumo, deve ser a

tradução fiel do mesmo, seguido pelas key-words;

d) **introdução**: clara, objetiva, contendo informações que justifiquem o trabalho, restringindo as citações ao necessário;

e) **material e métodos**: descrição concisa, sem omitir o essencial para a compreensão e reprodução do trabalho. Métodos e técnicas já estabelecidos devem ser referidos por citação;

f) **resultados**: sempre que necessário devem ser acompanhados por tabelas, figuras ou outras ilustrações, auto-explicativas. Texto e documentação devem ser complementares. Quando aplicáveis, os dados deverão ser submetidos à análise estatística. O conteúdo deve ser informativo, não interpretativo;

g) **discussão**: limitar aos resultados obtidos e conter somente as referências necessárias. O conteúdo deve ser interpretativo e as hipóteses e especulações formuladas com base nos achados;

h) **agradecimentos**: limitados ao indispensável;

i) **referências bibliográficas**: digitadas em minúsculas, sem ponto entre as abreviaturas, em espaço duplo, numeradas e organizadas em ordem alfabética pelo último sobrenome do autor; citar todos os autores de cada referência. Quando houver mais de uma citação do mesmo autor, seguir a ordem cronológica. As citações devem ser referidas no texto pelos respectivos números, acima da palavra correspondente, sem vírgula e sem parênteses; na lista de referências, deve seguir o seguinte estilo e pontuação:

Artigos em periódicos (os títulos dos periódicos devem aparecer por extenso):

Coura JR, Conceição MJ. Estudo comparativo dos métodos de Lutz, Kato e Simões Baarbosa no diagnóstico da esquistossomose mansoni. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 8:153-158, 1974.

Livros:

Chandra RK, Newberne PM. Nutrition, immunity and infection: machanisms of interactions. Plenum, New York, 1977.

Capítulos de livros:

Fulton JD. Diagnosis of protozoal diseases. In: Gell PGH, Coombs RRA (ed) Clinical aspects of immunology, 2nd

edtition, Blackwell, Oxford, p.133-136, 1968.

Resumos de congressos:

Daher RH, Almeida Netto JC, Pereira LIA. Disfunção hepática na malária grave. Estudo de 161 casos. In: Resumos do XXXI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Brasília p.16, 1995 .

Teses:

Tavares W. Contaminação do solo do Estado do Rio de Janeiro pelo Clostridium tetani. Contribuição ao conhecimento da distribuição natural do bacilo tetânico. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 1975.

Somente deverão ser citados os trabalhos publicados. Dados não publicados ou comunicações pessoais devem ser referidos no texto da seguinte forma: (AB Figueiredo: comunicação pessoal, 1980) e (CD Dias, EF Oliveira: dados não publicados).

6. Tabelas: numeradas em algarismos arábicos e dotadas de título descritivo conciso. Manter seu número ao mínimo necessário e lembrar que tabelas muito grandes são difíceis de serem lidas. Devem ser digitadas em espaço duplo em folhas separadas, sem linhas verticais e as unidades referidas no título de cada coluna. Todos os dados das tabelas, inclusive o título, devem ser em minúsculas, exceto as siglas.

7. Ilustrações: de boa qualidade e numeradas consecutivamente em algarismos arábicos. Além das fotografias, os gráficos, quadros etc. devem ser referidos no texto como Figuras. Anotar no verso com lápis o número da figura e o nome do autor e trabalho. Listar as legendas numeradas com os respectivos símbolos e convenções em folha separada e em espaço duplo. O número de ilustrações deve ser restrito ao mínimo necessário.

8. Comitê de ética: no trabalho de pesquisa envolvendo seres humanos, deverá constar o nome do Comitê de Ética que o aprovou.

9. Permissão dos autores: anexar carta com o ciente de todos os autores concordando com a publicação.

© 2009 SBMT