

## GLICOSAMINOGLICANOS NA PAREDE DA AORTA DE PACIENTES SUBMETIDOS À CIRURGIA DE REVASCULARIZAÇÃO DO MIOCÁRDIO. SUAS RELAÇÕES COM VARIÁVEIS DO PERFIL LIPÍDICO SANGÜÍNEO

EMÍDIO BRANCO DE ARAÚJO JR., SÉRGIO DIOGO GIANNINI NEUSA FORTI, JOSÉ MARCOS DE GÓIS, BRAINA ESTER DEREVIACKI, CÉLIA MARIA STRUNZ, SÉRGIO ALMEIDA DE OLIVEIRA

---

*Inexistindo investigações no homem (in vivo), sobre eventuais relações entre o GAG (glicosaminoglicanos) da parede arterial e a variação das frações lipídicas do sangue circulante, a presente pesquisa foi planejada utilizando fragmentos da aorta obtidos na abertura do óstio para implante da veia safena na cirurgia de revascularização do miocárdio, e os valores de diferentes variáveis lipídicas sangüíneas, dosadas na mesma oportunidade em 25 pacientes. GAG totais e condroitin 6-sulfato (C 6-S), condroitin 4-sulfato (C 4-S), dermatan sulfato (DS) e heparan sulfato (HS) obtidos em grupos de indivíduos normolipidêmicos foram comparados com os correspondentes hipercolesterolêmicos, hipertrigliceridêmicos ou hipoalfacolesterolêmicos (HDL-C inferior a 35 mg/dl). Correlações eventuais dos valores de GAG e das suas, frações com os valores das diversas variáveis lipídicas foram também investigadas.*

*Os resultados permitiram as seguintes conclusões: 1) os valores da média dos GAG totais e das suas diferentes frações, em grupo normocolesterolêmico, não diferiram significativamente dos outros 3 grupos: 2) valores dos GAG totais e das suas frações não se correlacionaram significativamente com os valores das diferentes variáveis com exceção de: a) DS com valores absolutos de betalipoproteínas; b) C 6-S com valor de (LDL-C) colesterol ligado à lipoproteína de baixa densidade e com os valores absolutos das betalipoproteínas.*

*As significativas correlações permitem levantar a hipótese de que num pequeno número de casos a variação de DS e de C 6-S tem alguma relação com os valores de LDL-C mas a presença de dislipidemia primária não representou condição significativa para alterar os níveis de GAG na parede da aorta torácica.*

---

Há muito se investiga a participação dos glicosaminoglicanos (GAG) na aterogênese e no desenvolvimento da placa aterosclerótica, mas os estudos iniciais empregaram métodos pouco sensíveis de análise. A partir de 1972, com modificações propostas por Dietrich e Dietrich<sup>1,2</sup>, essa participação pôde ser mais bem avaliada. Ela tem sido enfatizada por diferentes pesquisadores<sup>3,6</sup>, sobretudo pela demonstrada interação dos GAG sulfatados com as lipoproteínas de baixa densidade (LDL)<sup>7,8</sup>.

Tem-se verificado que as proporções das frações sulfatadas dos GAG - dermatan sulfato (DS), heparan sulfato

(HS) e condroitin sulfato (CS), esta última podendo ser fracionada em condroitin 6-sulfato (CS-6) e condroitin 4-sulfato (C4-S), diferem nas espécies animais<sup>9,12</sup> e que artérias normais as possuem em proporções diversas das ateroscleróticas<sup>6,13,15</sup>.

Tem sido mostrado, em animais, que a indução de hipercolesterolemia determina maior produção de GAG sulfatados pelas células miointimais<sup>16,17</sup> e, que em meio de cultura sua produção por essas células é variável em função das proporções de LDL e de HDL nele presentes<sup>33,35</sup>. Assim, pareceu de interesse verificar se distúrbios metabólicos lipídicos no homem se

relacionam a modificações quantitativas ou qualitativas desses compostos na parede arterial. A análise dos GAG da parede arterial concomitante à determinação do perfil lipídico sangüíneo encontra óbvias dificuldades, mas elas puderam ser contornadas quando se propôs utilizar fragmentos retirados da aorta nas cirurgias de revascularização miocárdica, por pontes de safena aortocoronárias. Por essa técnica, pode-se então, dispor ao mesmo tempo, do perfil de GAG do segmento da aorta, supostamente sem lesões ateroscleróticas, e do perfil lipídico sangüíneo do mesmo paciente. Procurou-se uniformizar a pesquisa excluindo pacientes com condições clínicas (diabetes mellitus e hipertensão arterial) potencialmente capazes de influenciar os GAG da parede.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 25 pacientes do sexo masculino, entre 40 e 55 anos (média de 49,5 anos), não diabéticos e normotensos (limites superiores de pressão arterial de 140 para a sistólica e de 90 mmHg para a diastólica), submetidos a cirurgia de revascularização do miocárdio, através de ponte de safena aorto-coronária.

Os fragmentos eram totalmente isentos da adventícia, em razão do preparo cirúrgico da aorta, sendo coletados imediatamente em 10 volumes de acetona a 5°C durante 24 horas para eliminar lípidos neutros e substâncias lipossolúveis. A suspensão obtida era centrifugada e seca a vácuo, com posterior digestão proteolítica. Após o tratamento do tecido com papaína, o material era submetido à hidrólise alcalina, e o sobrenadante precipitado com etanol absoluto, sendo depois centrifugado a vácuo e o material obtido colocado em água destilada<sup>15</sup>.

Para a identificação das diferentes frações sulfatadas foi utilizada uma combinação do método de microeletroforese em gel de agarose e degradação por enzimas específicas. Para tanto, os compostos foram aplicados em lâminas e precipitados por cetavlon a 0,1% e, posteriormente, corados com solução azul de toluidina a 0,1%, com o que se obtinha a metacromasia característica. Para degradação enzimática foi utilizada a condroitinase AC, que degrada condroitin 6-sulfato e condroitin 4-sulfato em dissacarídeos insaturados 6 e 4 sulfatos, respectivamente<sup>1, 2, 15</sup>. A figura 1 ilustra o fracionamento dos GAG que são identificados tendo como referência padrões de GAG sulfatados obtidos de pele, cartilagem e pulmão de animais (Laboratório Sigma Chemical Co.).

Através da densitometria, determinaram-se as concentrações do condroitin sulfato, dermatan sulfato e heparan sulfato.

Para quantificação de condroitin 6-sulfato e condroitin 4-sulfato utilizaram-se produtos do condroitin sulfato degradado pela ação da condroitinase ABC. Os dissacarídeos insaturados formados foram separados por cromatografia descendente em ácido isobutírico e revelados com nitrato de prata, para serem quantificados através de densitometria<sup>1, 2, 15, 19</sup>.

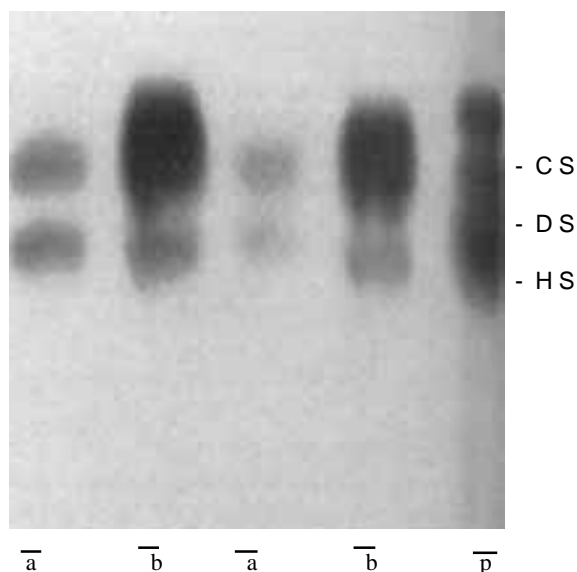


Figura 1

Fig. 1 – Microeletroforese em gel de agarose dos glicosaminoglicanos (GAG) extraídos de aorta humana (média + íntima) de pacientes submetidos à cirurgia de revascularização do miocárdio. CS – condroitin sulfato; DS – dermatan sulfato; HS – heparan sulfato: a frações remanescentes após incubação com condroitinase AC; b diferentes frações dos GAG antes da incubação com condroitinase AC; p – mistura padrão dos GAG.

Todos os valores obtidos foram expressos em miligramas por grama de tecido seco de aorta (mg/g), sendo também determinados os respectivos valores percentuais.

Pela importância da relação condroitin 6-sulfato / condroitin 4-sulfato

essa foi determinada em todos os casos, sendo aceito o valor de 3,5 como o limite superior da normalidade, valor máximo observado em aortas normais de cadáveres<sup>11</sup>.

Precedendo à cirurgia de 24 a 72 h, e estando os pacientes em jejum de 12 a 14 h foram dosados no sangue: a) glicose - método GOD-PAP<sup>20</sup>; b) lípides totais (LT) - método fotocolorimétrico de Chabrol e Charonnat modificado<sup>21</sup>; c) triglicérides (TG) - método de determinação enzimático<sup>22</sup>; d) colesterol-total (CT) - método colorimétrico enzimático<sup>23</sup>; e) HDL-colesterol - método de Warnick e Albers<sup>24</sup>.

Indiretamente determinaram-se os valores de VLDL colesterol (colesterol ligado a lipoproteínas de muito baixa densidade), de LDL colesterol (colesterol ligado a lipoproteínas de baixa densidade) e os chamados índices de risco coronário IR<sub>1</sub> e IR<sub>2</sub>, segundo os seguintes critérios: a) VLDL colesterol<sup>25, 26</sup> exclusivamente calculados para pacientes com triglicérides inferiores a 400 mg/dl, através da relação triglicérides / 5

e expressos os valores em mg/dl; b) LDL colesterol<sup>25, 26</sup> através da equação LDL colesterol = colesterol total - (VLDL colesterol + HDL colesterol), sendo os valores correspondentes expressos em mg/dl; c) IR<sub>1</sub> avalia-

do pela relação  $\frac{\text{colesterol total}}{\text{HDL colesterol}}$ <sup>27, 28</sup>; d) IR<sub>2</sub> avaliado pela relação  $\frac{\text{LDL colesterol}}{\text{HDL colesterol}}$ <sup>27, 28</sup>.

Os lípides sanguíneos foram também analisados através de fracionamento eletroforético em fitas de gel de celulose, determinando-se o percentual de cada fração e seu valor quantitativo, em função da lipídemia total.

Para comparações agruparam-se os pacientes segundo os valores das funções lipídicas dosadas bioquimicamente: 1) grupo A colesterol total  $\leq 250$  mg/dl e B colesterol total  $> 250$  mg/dl; 2) grupo C triglicérides  $\leq 160$  mg/dl e D triglicérides  $> 160$  mg/dl; 3) grupos E HDL  $\leq 35$  mg/dl e F  $> 35$  mg/dl.

As comparações entre os diferentes grupos foram feitas através do teste t de Student, para valores não pareados. Relações entre valores dos GAG totais, de condroitin 6-sulfato, condroitin 4-sulfato, dermatan sulfato e heparan sulfato com valores diferentes variáveis do perfil lipídico, foram pesquisadas através da determinação do coeficiente de correlação de Pearson (r).

A significância dos resultados foi considerada ao nível de 95% de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS

As médias e os respectivos desvios-padrão para GAG totais e suas frações e para os valores da relação condroitin 6-sulfato estão nos quadros I e II. Em apenas 5 condroitin 4-sulfato casos esta relação era maior que 3,5.

**QUADRO I - Médias e desvios-padrão dos valores de glicosaminoglicanos totais e de suas frações obtidas em fragmentos de aorta ascendente de pacientes submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica.**

Variáveis	N	X $\pm$ S	X $\pm$ S
		mg/g <sub>a</sub>	(%)
GAG	25	6,16 $\pm$ 2,69	-
CS	25	4,64 $\pm$ 1,81	77,00 $\pm$ 11,00
DS	25	0,76 $\pm$ 0,58	11,50 $\pm$ 5,80
HS	25	0,78 $\pm$ 0,56	11,50 $\pm$ 4,54

GAG = glicosaminoglicanos totais; CS = condroitin sulfato; DS = dermatan sulfato; HS = heparan sulfato; mg/g<sub>a</sub> = miligrama por grama de tecido seco de aorta; N = número de pacientes; X = média; S = desvio padrão.

**QUADRO II - Médias e desvios-padrão dos valores de condroitin sulfato, condroitin 6-sulfato, condroitin 4-sulfato, e da relação C6-S/ C4-S obtidos em fragmentos de aorta ascendente de pacientes submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica.**

Variáveis	N	X $\pm$ S	X $\pm$ S	X $\pm$ S
		(mg/g <sub>a</sub> )		(%)
CS	25	4,64 $\pm$ 1,81		77,00 $\pm$ 11,00
C6-S	25	3,17 $\pm$ 1,26		69,00 $\pm$ 13,00 **
C4-S	25	1,92 $\pm$ 0,92		53,00 $\pm$ 15,00 *
C6-S				30,50 $\pm$ 12,50 **
C4-S	25		2,77 $\pm$ 1,93	(24,00 $\pm$ 10,38) *

CS = condroitin sulfato; C6-S = condroitin 6-sulfato; C4-S = condroitin 4-sulfato; C6-S/C4-S = relação entre condroitin 6 e 4-sulfato \* = médias e desvios-padrão das porcentagens das frações C6-S e C4-S do total dos GAG; CS= C6-S + C4-S; \*\* = médias e desvios-padrão das porcentagens de quantidade total de CS; N = número de pacientes; X = média; S = desvio-padrão.

**QUADRO III - Comparação das médias (mg/g<sub>a</sub>) dos GAG totais e das suas frações dos diferentes grupos pelo teste t.**

Grupos	N	GAG	t	C6-S	t	C4-S	t	DS	HS	t
		X $\pm$ S		X $\pm$ S		X $\pm$ S		X $\pm$ S	X $\pm$ S	
A (CT $\leq 250$ mg/dl)	15	6,61 $\pm$ 3,03	0,88	3,49 $\pm$ 1,45	1,54	1,37 $\pm$ 0,94	0,43	0,90 $\pm$ 0,67	0,85 $\pm$ 0,62	0,45
B (CT $> 250$ mg/dl)	8	5,54 $\pm$ 2,29		2,63 $\pm$ 0,52		1,55 $\pm$ 0,96		0,60 $\pm$ 0,35	0,74 $\pm$ 0,46	
C (TG $\leq 160$ mg/dl)	5	5,52 $\pm$ 4,54		2,65 $\pm$ 2,00		1,30 $\pm$ 0,81		0,76 $\pm$ 0,80	0,72 $\pm$ 0,93	
D (TG $> 160$ mg/dl)	18	6,44 $\pm$ 2,24	0,64	3,34 $\pm$ 1,09	1,04	1,47 $\pm$ 0,98	0,35	0,81 $\pm$ 0,54	0,82 $\pm$ 0,45	0,14
E (HDL-C $\leq 35$ mg dl)	17	6,15 $\pm$ 2,43		3,34 $\pm$ 1,34		1,58 $\pm$ 0,94		0,92 $\pm$ 0,63	0,87 $\pm$ 0,62	
F (HDL-C $> 35$ mg/dl)	6	4,83 $\pm$ 1,89		2,75 $\pm$ 1,14		1,01 $\pm$ 0,81		0,48 $\pm$ 0,29	0,57 $\pm$ 0,84	

GAG = glicosaminoglicanos totais; C6-S = condroitin 6-sulfato; C4-S= condroitin 4-sulfato; DS = dermatan sulfato; HS = heparan sulfato; CT = colesterol total; HDL-C = colesterol ligado às lipoproteínas de alta densidade; mg/g<sub>a</sub> = miligrama por grama de tecido seco de aorta; mg/dl = miligrama por decilitro; X = média; S = desvio-padrão.

Nos quadros III e IV estão indicadas as médias e os respectivos desvios-padrão para cada fração lipídica. Os índices de risco variaram, respectivamente, de 5,1 a 11,6 (IR<sub>1</sub>) e de 3,2 a 8,1 (IR<sub>2</sub>).

Através do teste t<sub>2</sub> não foi possível mostrar diferenças significativas na comparação entre os grupos A e B, C e D

e E e F, em relação aos valores dos GAG e suas frações, tanto em valores absolutos, como relativos (quadros III, IV). Ressalta-se que os grupos diferiam significativamente entre si, em relação às variáveis lipídicas, como indicam os valores de t obtidos pelos confrontos das respectivas médias (quadro V).

Os coeficientes de correlação foram significativos apenas quando confrontados os valores de dermatan sulfato com os de betalipoproteínas ( $r = 0,43$ ,  $r$  crítico =

$0,43$ ) e valores condroitin 6-sulfato com os de LDL-colesterol ( $r = 0,54$ ,  $r$  crítico =  $0,49$ ) ou com os de betalipoproteínas ( $r = 0,50$ ,  $r$  crítico =  $0,43$ ) (quadro VI).

**QUADRO IV - Comparação das médias (porcentual) dos GAG totais e das suas frações dos diferentes grupos pelo teste t.**

Grupos	N	GAG	t	C6-S	t	C4-S	t	DS	t	HS	t
		X ± S		X ± S		x ± S		X ± S		X ± S	
A (CT ≤ 250 mg/dl)	15	6,60 ± 6,60	0,88	72,40 ± 12,40	1,27	27,90 ± 11,60	1,20	13,20 ± 6,70	1,10	12,20 ± 5,00	0,15
B (CT > 250 mg/dl)	8	5,50 ± 2,20		65,20 ± 13,70		34,70 ± 13,70		10,30 ± 2,90		12,50 ± 3,40	
C (TG ≤ 160 mg/dl)	5	5,52 ± 4,54		66,00 ± 3,94		34,00 ± 3,94		12,30 ± 3,80		12,10 ± 4,58	
D (TG > 160 mg/dl)	18	6,44 ± 2,24	0,64	70,90 ± 14,50	0,75	29,20 ± 14,00	0,73	12,20 ± 6,34	0,03	12,30 ± 4,59	0,11
E (HDL-C ≤ 35 mg/dl)	17	6,15 ± 2,43		68,64 ± 12,31		31,61 ± 11,50		13,24 ± 6,42		12,66 ± 5,05	
F (HDL-C > 35 mg/dl)	6	4,83 ± 1,89		75,40 ± 15,60		24,58 ± 15,60		9,35 ± 1,87		9,35 ± 1,87	

GAG = glicosaminoglicanos totais; C6-S = condroitin 6-sulfato; C4-S = condroitin 4-sulfato; DS = dermatan sulfato; HS = heparan sulfato; CT = colesterol total; HDL-C = colesterol ligado às lipoproteínas de alta densidade; mg/g<sub>a</sub> = miligrama por grama de tecido seco de aorta; mg/dl = miligrama por decilitro; X = média; S = desvio padrão.

**QUADRO V - Comparação pelo teste t pareado entre as médias variáveis lipídicas dosadas por métodos bioquímicos em mg/dl nos diferentes grupos.**

Grupos	N	X ± S	t
A (CT ≤ 250)	15	211,40 ± 24,10	6,00 *
B (CT > 250)	8	275,50 ± 24,90	
C (TG ≤ 160)	5	98,00 ± 18,70	
D (TG > 160)	18	357,78 ± 157,42	3,62
E (HDL-C ≤ 35)	17	28,4 ± 4,35	
F (HDL-C > 35)	6	39,17 ± 2,23	

CT = colesterol total; TG = triglicérides, HDL-C = colesterol ligado à lipoproteína de alta densidade; mg/dl = miligrama por decilitro; N = número de pacientes; X = média; S = desvio-padrão; \* = significativo ( $p < 0,05$ ).

**QUADRO VI - Coeficientes de correlação significativos ( $p < 0,05$ ) obtidos nos confrontos possíveis entre valores das frações de GAG com os valores de diferentes variáveis**

Frações de GAG	Variáveis	N	r
DS (mg/g <sub>a</sub> )	X Betalipoproteína (mg/dl)	21	+ 0,43
C6-S (mg/g <sub>a</sub> )	X LDL-C (mg/dl)	16	+ 0,54
C6-S (%)	X Betalipoproteína (mg/dl)	21	+ 0,50

GAG = glicosaminoglicanos totais; DS = dermatan sulfato; C6-S = condroitin 6-sulfato; LDL-C = colesterol ligado à fração de lipoproteína de baixa densidade; N = número de pacientes; r = coeficiente de correlação (Pearson); mg/g<sub>a</sub> = miligrama por grama de tecido seco de aorta; mg/dl = miligrama por decilitro.

O perfil dos GAG foi constante, sempre isolando-se as frações C6-S, C4-S, DS e HS como o ilustrado na figura 1.

## COMENTÁRIOS

Inicialmente deve-se notar que não há na literatura investigações semelhantes a esta, pois no homem as pesquisas sobre GAG têm sido feitas em material de necropsias, analisando separadamente as camadas íntimas e média. Toledo e Mourão<sup>11,15</sup>, utilizando aortas torácicas de cadáveres em segmentos isentos de lesões ateroscleróticas, determinaram os valores dos GAG de parede sem adventícia e encontraram médias de 80% para CS (C6-S = 56%; C4-S = 24%), 10% para DS e 10% para HS. Os resultados aqui apresentados assemelham-se a esses, pois obteve-se 77% para CS (C6-S = 53%, C4-S = 24%), 11,5% para DS e 11,5% para HS.

Investigações de outros pesquisadores, realizadas em aortas de cadáveres, mostram que a presença de doença aterosclerótica modifica esse perfil, pois na íntima há diminuição de condroitin 6-sulfato, condroitin 4-sulfato, heparan sulfato e elevação de dermatan sulfato, ao passo que nas camadas média e adventícia elas praticamente não se alteram<sup>6, 17, 29</sup>.

Tendo portanto como referência os valores percentuais do GAG da presente pesquisa, pode-se admitir que a maior parte dos fragmentos analisados não era sede de lesões ateroscleróticas importantes. O material obtido parece, então, ser adequado para analisar se o teor dos lipídios sanguíneos guarda alguma relação com a quantidade e com o perfil dos GAG da parede arterial, propósito desta pesquisa.

Quando se reuniram os pacientes segundo valores limites de CT, TG ou de HDL-C, pôde-se verificar que embora os grupos A, C e E diferissem de modo significativo respectivamente dos grupos B, D e F, eles não foram estatisticamente diferentes quanto ao teor dos GAG totais ou das diferentes frações. Em outras palavras, a presença de hipercolesterolemia, de hipertrigliceridemia ou de baixos valores de HDL-C circulantes

aparentemente não influenciaram qualitativa e quantitativamente os GAG na porção da aorta analisada.

Dos diferentes coeficientes de correlação ( $r$ ) determinados, apenas foram significativos os do confronto entre valores de dermatan sulfato e de betalipoproteínas ( $r = 0,43$ ,  $r$  crítico =  $0,43$ ) e os C6-S com os de betalipoproteínas ( $r = 0,50$ ,  $r$  crítico =  $0,43$ ) e com os LDL-colesterol ( $r = 0,54$ ,  $r$  crítico =  $0,49$ ).

Ainda que significativos, os valores de  $r$  acima indicados estiveram muito próximos dos valores críticos mostrando que pequeno número de pacientes (18 a 29%) exibiu relação entre o teor de LDL sérico e o das frações C6-S e DS.

É possível que, para esses casos, o teor das lipoproteínas de baixa densidade em circulação seja o estímulo regulador da síntese da C6-S e DS pelas células miointimais, como observado em cultura dessas células, mas também pode-se supor que o mesmo código genético regule simultaneamente o "pool" de LDL e o de C6-S e DS da parede arterial.

Na maioria dos indivíduos, no entanto, as proporções das frações da GAG da parede arterial não parecem depender do perfil lipídico sanguíneo e talvez outros fatores (hemodinâmicos, hipóxia, etc.) sejam responsáveis pelas modificações referidas nos diversos estágios da lesão aterosclerótica observada por diferentes pesquisadores<sup>4,30,31</sup>. Outra possibilidade é a de que, após iniciada a formação do ateroma, os GAG passem a sofrer a influência dos lípidos presentes na parede. Diante dos resultados aqui apresentados é possível admitir que a parede arterial exiba um padrão particular dos GAG, independentemente do perfil de lípidos em circulação, e que a formação e a precipitação dos complexos GAG-LP possa ocorrer por mecanismos não ligados à concentração das duas substâncias, mas a outras condições, como as sugeridas por Iverius (peneira molecular, exclusão estérica e ligação iônica)<sup>4</sup>.

### SUMMARY

Since there is no investigation in humans (in vivo) on the eventual relation between glycosaminoglycans (GAG) of the arterial wall and the various lipid fractions of the blood, the present investigation was undertaken using fragments of aorta obtained in the aperture of the ostium to implant the saphenous vein in myocardial revascularization surgery, and the blood lipid values of different variables doses at the same opportunity in 25 patients. Total GAG and mean values of chondroitin 6-sulfate, chondroitin 4-sulfate, dermatan sulfate and heparan sulfate fraction from normolipidemic individuals were compared with the corresponding ones of hypercholesterolemic, hypertriglyceridemic or hypoalphacholesterolemic subjects (HDL-cholesterol blood values inferior to 35 mg/dl). Eventual correlations of the GAG values and its fraction with the values of several lipid variables were also investigated.

Results permitted the following conclusions: 1) mean values of total GAG and its different fractions in the normocholesterolemic group did not significantly differ from the one found in the other groups; 2) values of total GAG and its fractions did not significantly correlate with the values of the different variables except for: a) dermatan sulfate with absolute values of b-lipoproteins; b) chondroitin 6-sulfate with LDL-cholesterol values and with absolute b-lipoproteins values.

The significant correlations lead to the conclusion that in a small number of cases the variations of dermatan sulfate and chondroitin 6-sulfate bear some relationship with the values of low-density lipoproteins but the presence of primary dislipidemia did not represent a condition able to significantly alter the GAG level of the wall of the thoracic aorta.

### REFERÊNCIAS

1. Dietrich, C. P.; Dietrich, S. M. C. - Simple micromethod for identification of heparin and other acid mucopolysaccharides from mammalian. *Anal. Biochem.* 46: 209, 1972.
2. Dietrich, C. P.; Dietrich, S. M. C. - Electrophoretic behavior of acid mucopolysaccharides in diamine buffers. *Anal. Biochem.* 70: 645, 1976.
3. Iverius, P. H. - The interaction between human plasma lipoprotein and connective tissue glycosaminoglycans. *J. Biol. Chem.* 247:2607, 1972.
4. Iverius, P. H. - Possibility role of glycosaminoglycans in the genesis of atherosclerotic. In: - Atherogenesis: Initiating factors. Ciba Foundation Symposium 12º Elsevier, Excerpta Medica. 1973 p. 185.
5. Murata, K.; Harada, T.; Okuko, K. - Enzymatic of chondroitin sulfates in human arterial tissue. *J. Atheroscler. Res.* 8: 951, 1968.
6. Stevens, R. L.; Colombo, M.; Gonzales, J. J.; Hollander, W.; Schmidt, K. - The glycosaminoglycans of the human artery and their changes in atherosclerosis. *J. Clin. Invest.* 58: 470, 1976.
7. Laurent, T. C. - Interaction between proteins and glycosaminoglycans. *Fed. Proc.* 36: 24, 1977.
8. McCullagh, K. A.; Balian, G. - Collagen characterizations and cell transformation in human atherosclerosis. *Nature*, 258: 73, 1975.
9. Engels, U. R. - Glycosaminoglycans in the aortic of six animals species. *Atherosclerosis*, 13: 45, 1971.
10. Gardais, A.; Picard, J.; Hermelin, B. - Glycosaminoglycans (GAG) distribution in aortic wall from five species. *Comp. Biochem. Physiol.* 44: 507, 1977.
11. Toledo, O. M. S. - Estudo dos glicosaminoglicanos da parede da aorta: sua importância funcional e interação com lipoproteínas plasmáticas. São Paulo. 1981 (Tese de doutoramento - Escola Paulista de Medicina).
12. Toledo, O. M. S.; Mourão, P. A. S. - Sulfated glycosaminoglycans in normal aortic wall of different mammals. *Artery*, 6: 1, 1980.
13. Oliveira, J. M. - Hereditariedade. In: - Fatores de risco coronariano. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1978. p. 87.
14. Scrivinasan, S. R.; Dolan, P.; Radhakrishnamurthy, B.; Berenson, G. S. - Isolation of lipoprotein acid mucopolysaccharides complexes from fatty streaks of human aortas. *Atherosclerosis*, 16: 95, 1972.
15. Toledo, O. M. S.; Mourão, P. A. S. - Sulfated glycosaminoglycans of human aorta: chondroitin 6-sulfate increase with age. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 89: 50, 1979.
16. Pillai, S.; Donnelly, P. V.; Mourão, P. A. S.; Di Ferrante, N.; Eskin, S. G. - Effect of high density lipoproteins and low density lipoproteins on the glycosaminoglycans metabolism of cultured bovine smooth muscle cells. *Biochem. Int.* 1: 55, 1980.
17. Wagner, W. D.; Salisbury, B. G. J. - Aortic glycosaminoglycans and dermatan sulfate changes in atherosclerotic rhesus monkeys. *Esp. Mol. Pathol.* 39: 322, 1978.

18. Ross, R.; Glomset J. A. - Atherosclerosis and arterial smooth muscle cell. *Science*, 180: 1, 322, 1973.
19. Dietrich, C. P.; Dietrich, S. M. C. - Simple micromethod for identification of heparin and other acid mucopolysaccharides from mammalian. *Anal Biochem* 46: 209, 1972
20. Schmidt, F. H.; Pfeiffer, E. F. et al. - *Handbuch des Diabetes Mellitus*. Munic. Verlag, 1971. Tomo 2, p. 938.
21. Chabrol, E.; Charonnat, R. - Une nouvelle reaction pour l'etude des lipides. *Presse med.* 45: 1713, 1937
22. Wahlefeld, R. G.; Bergemeyer, H. V. - *Methoden der enzymatischen analyse*. 3. ed. Weinheim. Verlag Chemic, 1975. V. 2 p. 1878.
23. Allain, C. C.; Poon, L. S.; Chan, C. S. Q.; Richmond, W.; Fu, P. C. - Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.* 20: 470, 1974.
24. Warnick, G. R.; Albers, J. J. - A comprehensive evaluation of heparin manganese precipitation procedure for estimating high density lipoprotein cholesterol. *J. Lipid Res.* 19: 65. 1978.
25. Beamont, J. L.; Carlson, L. A.; Cooper, G. R.; Fejfar, Z.; Fredrickson, D. S.; Strasser, T. - Classification of hyperlipidaemias and hyperlipoproteinaemias. *Bull. Wild. Wild. Hlth. Org.* 43: 891, 1970.
26. Fredrickson, D.; Goldstein, J. L.; Brown, M. S. - The familial hyperlipoprotein. In: Stanbury J. B.; Wjngaarden. J. B.; Fredrickson. D. - *The metabolic basis of inherited disease*. New York McGraw-Hill. 1978 p. 545
27. Castelli, W. P.; Levitas, I. M. - A new look at lipids why they're not all bad. *Current Prescribing.* 6: 39, 1977.
28. Castelli, W. P. - HDL, in assessing risk of CHD. *Metabolic Therapy*, 6: 1, 1977.
29. Murata, K.; Oshima, Y - Chondroitin sulfates in atherosclerotic human aorta. *Atherosclerosis*, 14: 121, 1971
30. Adams, C. W. M. - Tissue changes and lipid entry in developing atheroma. In: *Atherogenesis: Initiating Factors*. Ciba Foundation Symposium 12°. Elsevier Excerpta Medica. 1973. p. 5
31. Fry, D. L. - Responses of the arterial wall to certain physical factors. In: *Atherogenesis: Initiating Factors*. Ciba Foundation Symposium 12° Elsevier, Excerpta Medica, 1973 p.93.