

IV-CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODO

IV.1- CASUÍSTICA

Como amostra temos um grupo de 82 pacientes, sendo 62 do sexo masculino e 20 do sexo feminino, com idades variando entre 14 a 87 anos, portadores de hanseníase virchoviana, tratados e não tratados, não portadores de reações tipo eritema nodoso, atendidos e selecionados pelo serviço de Dermatologia do Instituto Lauro de Souza Lima, de Bauru(SP), e Centro de Saúde I de Bauru, nas quais foram determinados os níveis de colesterol, triglicérides, HDL-colesterol, LDL-colesterol, Apoproteína AI e B, glicemia, ácido úrico, lipídeos totais e suas frações e Lipoproteína(a).

Efetuamos dosagens do colesterol, triglicérides, HDL-colesterol, LDL-colesterol, Lipoproteína(a), glicemia e ácido úrico em um grupo de pacientes denominado grupo controle, em número de 120 pessoas, escolhidas aleatoriamente, sendo 41 do sexo masculino e 79 do sexo feminino, com idade variando entre 12 e 87 anos, com o objetivo de avaliarmos os seus níveis médios e em 32 delas determinarmos a apoproteína AI e B.

IV.2 - MATERIAL

IV.2.1 - AMOSTRA

1-Amostras de sangue venoso foram colhidas através de venipunção e coletadas em frascos sem anticoagulante, para a obtenção de soro e em frascos com anticoagulante fluoreto-oxalato. As amostras obtidas foram manipuladas o mais rapidamente possível e determinadas as seguintes variáveis: ácido úrico, colesterol, glicose, HDL-colesterol, LDL-colesterol, triglicérides, lipídeos totais e frações, apoproteínas AI, B e Lipoproteína (a).

2-Levantamento efetuado em 209 autópsias realizadas pelo serviço de Anatomia Patológica, entre 1970 e 1986, em pacientes do Hospital Lauro de Souza Lima, Baum (SP), serviço esse sob a chefia do Dr. Raul Negrão Fleury.

IV.2.2- REAGENTES - ACESSÓRIOS E APARELHOS

- Kit de colesterol Enzimático CHOOD-PAP Merck-BMB
- Kit de colesterol enzimático Winner
- Kit para determinação dos lipídeos totais Biolab
- Kit de ácido úrico enzimático Reatoclin
- Kit para determinação da apolipoproteína(a) Pharmacia
- Kit de triglicérides totalmente enzimático Reatoclin

- Fitas de acetato de celulose Cellogel
- Solução de orto-toluidina Merck
- Solução precipitante de HDL-colesterol Merck-BMB
- Solução precipitante do LDL-colesterol Winner
- Placas de imunodifusão radial para ApoAI Behring
- Placas de Imunodifusão radial para ApoB Behring
- Soluções de anticoagulantes: EDTA , fluoreto-oxalato
- Solução de NaOH 0,5 N
- Solução de sulfato de zinco a 10%
- Agulhas BD 25 x 7 IV
- Partigen- Dispenser OTCK 02/ 03 de 5 ul.
- Pipetas automáticas SMI modelo 1075 C
- Pipetas automáticas SMI modelo 1075 H
- Pipetas automáticas SMI modelo 1075 I
- Pipetas automáticas SMI modelo 1085 G
- Pipetas automáticas Oxford 100, 500 e 1000 ul
- Seringas descartáveis BD-Plastipac 20 ml
- Tubos de ensaio 12 x 75 e 15 x 100
- Centrifuga Celm modelo LS-3
- Contador gama Logic - Abbott
- Espectrofotômetro Coleman Junior II modelo 6/20 A
- Espectrofotômetro digital modelo E 215-D
- Estantes de polipropileno para tubos de ensaios
- Fluxo contínuo termostatizado modelo SB-205- S
- Automatizador de Ensaio Colorimétricos mod. AEC 5500
- Densitômetro e Sistema de Eletroforese Tecnow.

IV.2.3 - RELATÓRIOS DE NECROPSIAS

Nos relatórios de necrópsias elaborados pelo serviço de Anatomia Patológica do Instituto Lauro de Souza Lima e utilizados para o levantamento, encontram-se os dados pessoais dos pacientes, história clínica, evolução, descrição macroscópica, descrição microscópica e o resumo das principais lesões encontradas.

IV.3 - MÉTODO

O colesterol e o triglicérides foram determinados por métodos enzimáticos e a glicose foi determinada pela orto-toluidina.

Na dosagem do colesterol utilizamos o Kit Colesterol monoteste "High Performance" CHOD-PAP da Boehringer Mannheim, pois o mesmo se baseia na técnica de SIEDEL⁹⁸, onde a dosagem enzimática envolve a clivagem do éster do colesterol pela esterase de colesterol e a oxidação do colesterol livre pela oxidase de colesterol.

Em nosso trabalho utilizamos como agente precipitante, do LDL e VLDL, para a dosagem do HDL-colesterol, o ácido fosfotungstico e o cloreto de magnésio, previamente indicados por ASSMANN *et al*, LOPES-VIRELLA *et al*⁵⁷ e WARNICK *et al*¹¹², por ser mais estável e produzir resultados semelhantes à ultracentrifugação. Na dosagem do colesterol, utilizamos o método enzimático CHOD-PAP "High Performance" da Boehringer Mannheim, comercializado pela Merck Diagnóstica.

Para a determinação das apoproteínas AI e B, utilizamos placas de imunodifusão radial², fabricada pela Behringwerke AG e a Lipoproteína(a) foi determinada por radioimunoensaio, utilizando-se material da Pharmacia.

O agente precipitante para o LDL-colesterol utilizado foi o da Winner, sendo o colesterol dosado pelo método enzimático Winner.

Para a dosagem dos lipídeos totais, utilizamos a técnica da sulfofosfovanilina e o fracionamento, através da eletroforese, em fita de acetato de celulose com posterior leitura densitométrica.

Os detalhes das diferentes técnicas utilizadas, para a determinação das variáveis citadas, encontram-se em Anexos.

IV.4- ANALISE ESTATÍSTICA,

As médias foram comparadas pelo teste t de Student para amostras independentes e as proporções pelo teste do qui-quadrado, adotando-se o nível de 5% para a declaração de diferença significativa.