



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

RICHARD RARISON CAVALCANTE MENESES

ANÁLISE DO TAMANHO E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DA
LIPOPROTEÍNA HDL EM INDIVÍDUOS COM NORMO OU
HIPOALFALIPOPROTEINEMIA

FORTALEZA

2017

RICHARD RARISON CAVALCANTE MENESES

ANÁLISE DO TAMANHO E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DA
LIPOPROTEÍNA HDL EM INDIVÍDUOS COM NORMO OU
HIPOALFALIPOPROTEINEMIA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Biologia para a Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz

Co-orientadora: Profa. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno

FORTALEZA

2017

RICHARD RARISON CAVALCANTE MENESES

ANÁLISE DO TAMANHO E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DA
LIPOPROTEÍNA HDL EM INDIVÍDUOS COM NORMO OU
HIPOALFALIPOPROTEINEMIA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Biologia para a Saúde.

Aprovada em: __/__/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Jamile Magalhães Ferreira
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

À Deus

Aos meus queridos pais, Ricardo e Mônica

Ao meu irmão, Gdayllon

A minha amada, Kilvia

Às minhas orientadoras, Goretti e Nágila

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser minha fonte de dedicação, força de vontade e amor. Por ser meu sustentáculo em todos os desafios e vitórias presentes nessa pesquisa. A gratidão é diária.

Aos meus pais, Ricardo e Mônica, que sempre ficaram, ficam e ficarão na torcida da busca de minhas realizações e sonhos. Muito eles fizeram e ainda fazem e, sigo em frente com a ciência de que cada passo dado é devido, também, a dedicação e educação ofertadas por eles para a criação do homem que sou hoje. A realização desse sonho é nossa!

Ao meu irmão, Gdayllon, que é meu exemplo de pesquisador sábio, inteligente e ciente. Por me ajudar, sempre que preciso, no amadurecimento dos caminhos aos quais decidia percorrer.

A minha amada, Kilvia, por me apoiar em meus projetos. Por acreditar no meu potencial e demonstrar paciência em escutar minhas dúvidas e anseios em assuntos muitas vezes desconhecidos.

A minha orientadora e mãe, Goretti, por se mostrar sempre presente em todas as decisões difíceis a serem tomadas e solucioná-las com propriedade e bom senso. Por confiar nas minhas ações e acreditar que posso alçar voos mais altos. Por fazer possível a realização desse sonho.

A minha surpreendente e sábia orientadora, Nágila, por nos presentear com a ideia desse projeto. Por proporcionar parcerias e aprendizados de novas metodologias. Por difundir seu conhecimento, mesmo que distante, através de seus e-mails, ligações e mensagens. Por nos fazer acreditar que sempre podemos ir mais longe.

A amável professora Vera, que me acolheu de coração aberto em São Paulo e se mostrou sempre disponível para me guiar em um mundo desconhecido. E ao decorrer de nossas conversas maduras e divertidas percebi um fraterno diálogo entre avó e neto.

A toda a equipe do laboratório de Nutrição Humana da USP (Cardionutri e Cetousp), Patrícia, Flávia, Camila, Giovanna, Mariana, Brenda e Gabi, por abrir as portas do laboratório, tornando possível a realização desta pesquisa. Por confiar nas minhas habilidades de pesquisador e por se mostrarem sempre solícitas em tudo em que precisava. Por me ensinarem novas metodologias essenciais para o projeto.

A técnica e pesquisadora, Geni, do laboratório de Bromatologia da USP, por ser uma fonte de conhecimento e soluções para dificuldades que surgiam nas metodologias

realizadas. Por sempre se mostrar prestativa e honesta. Por confiar nas minhas habilidades de pesquisador farmacêutico.

Ao casal acolhedor e amigo, Ismael e Juliana, e do hilário Rubens. Por me acolherem em São Paulo, tornando as noites das semanas e finais de semana muito mais divertidos e descontraídos.

A família Bioquímica, Mariana, Priscilla, Renata, Elias, Alisson e Eberth que se mostraram sempre presentes em ajudar em tudo que eu precisasse, seja na execução ou na administração do projeto.

Aos meus eternos professores e exemplos de pais, Daniel e Jamile, por me ajudarem seja de forma direta ou indireta na tomada de decisões e solução de problemas.

A toda a família do Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas (LACT), em especial, ao Glautemberg e sua esposa Luciana, Gerluci e Barbara, que se mostraram dispostos a ajudar na prospecção e atendimento dos voluntários do projeto.

A toda a equipe de pesquisa da Nutrição da UNIFOR, Sara, Letícia, Hiandra e Rafaela, por serem grandes parceiros, promotores e apoiadores do projeto. Por compartilharem seus conhecimentos tornando essa pesquisa mais rica.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”. (Madre Teresa de Calcuta)

RESUMO

A redução da concentração de colesterol-HDL (hipoalfalipoproteinemia) é um fator de risco cardiovascular independente, porém, recentes evidências mostram que o tamanho e a funcionalidade da HDL são importantes fatores para entender o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Além disso, a modificação do metabolismo dos triglicerídeos (TG) está geralmente associada ao baixo c-HDL, embora o impacto desse lipídeo sobre outros componentes do HDL não esteja claro. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o tamanho e a capacidade antioxidante da HDL em indivíduos com normo ou hipoalfalipoproteinemia. A partir de 130 indivíduos, 4 grupos foram compostos de acordo com os níveis de c-HDL e TG: baixo c-HDL (<40 mg/dL) e baixo TG (<150 mg/dL) (G1), baixo c-HDL e TG elevado (> 200 mg/dL) (G2), c-HDL elevado (> 60 mg/dL) e baixo TG (G3) e c-HDL elevado e TG elevado (G4). As análises de glicose, perfil lipídico, tamanho de HDL e capacidade antioxidante de HDL foram realizadas por métodos padronizados e validados. A composição antropométrica e corporal dos indivíduos também foi avaliada. Os resultados mostraram que os grupos G1 (21%) e G2 (20%) apresentaram maior porcentagem de HDLs pequenas do que o G3 (10%; $p = 0,002$). Este perfil exerceu um impacto negativo na relação HDL grandes / HDL pequenas ($G1 = 0,7$, $G2 = 0,4$, $G3 = 2,2$, $G4 = 1,0$, $p < 0,001$). A hipertrigliceridemia isolada mostrou efeito negativo nessa proporção ($G1 = G2 = G4$ mas $< G3$), mas não no HDL pequeno ($G3$; $p = 0,002$). O IMC ($r = -0,444$; $p < 0,001$) e CC ($r = -0,281$; $p = 0,017$) apresentaram correlação negativa com HDL grandes. A capacidade antioxidante de HDL em G1 (80min) e G2 (77min) foi menor que o controle ($G3 = 86$ min). Surpreendentemente, em indivíduos com HDL alto a presença de hipertrigliceridemia foi capaz de reduzir a capacidade antioxidante de HDL. Em conclusão, indivíduos com valores elevados de IMC e CC apresentam tamanho reduzido de partículas de HDL e a hipertrigliceridemia mostrou que promove papel negativo no tamanho, assim como a hipoalfalipoproteinemia, e na capacidade antioxidante da HDL.

Palavras-chaves: Lipoproteína de alta densidade; antioxidante; hipoalfalipoproteinemia

ABSTRACT

Reduced HDL-cholesterol is an independent cardiovascular risk factor, however, recent evidences show that size and functionality of HDL involves other characteristics of this lipoprotein. Furthermore, disturbed triglycerides (TG) metabolism are generally linked with low HDL-cholesterol, although the impact of this lipid on other components of HDL is not clear. So, the goal of this study was investigate the impact of TG levels on size and antioxidant capacity of HDL. From 130 subjects, 4 groups were composed according levels of HDL-c and TG: low HDL-c (<40 mg/dL) and low TG (<150 mg/dL) (G1), low HDL-c and high TG (>200 mg/dL) (G2), high HDL-c (>60 mg/dL) and low TG (G3) and high HDL-c and high TG (G4). Analyses of glucose, lipid profile, size of HDL and antioxidant capacity of HDL were performed by standard and validated methods. Anthropometric and body composition was evaluated. Results showed that, G1 (21%) and G2 (20%) groups showed increased smallest HDL than G3 group (10%; $p=0.002$), although of the similar LDL-c and total cholesterol. This profile exerted a negative impact in large HDL/small HDL ratio ($G1=0.7$; $G2=0.4$; $G3=2.2$; $G4=1.0$; $p<0.001$). Isolate hypertriglyceridemia showed negative effect on this ratio ($G1=G2=G4$ but $<G3$), but not in small HDL ($G3$; $p=0.002$). BMI ($r=-0.444$; $p<0.001$) and WC ($r=-0.281$; $p=0.017$) showed negative correlation with large HDL. Antioxidant capacity of HDL in G1 (80min) and G2 (77min) was lower than control ($G3=86$ min). Surprisingly, in subjects with high HDL the presence of hypertriglyceridemia was able to reduce antioxidant capacity of HDL. In conclusion, individuals with high BMI and WC values showed reduced size of HDL particles and the hypertriglyceridemia promote negative role in size and antioxidant capacity of individuals independent of cholesterol present in HDL.

Keywords: High density lipoprotein; Antioxidant; Hypoalphalipoproteinemia

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura esférica da partícula de HDL	15
Figura 2 - Heterogeneidade das partículas de HDL.....	17
Figura 3 - Via circular da formação e degradação da lipoproteína de alta densidade (HDL).....	18
Figura 4 - Posicionamento correto ao realizar a análise de bioimpedância no equipamento Biodynamics 450®	27
Tabela 1 - Caracterização e análise das variáveis socioeconômicas, culturais e clínicas dos pacientes. Fortaleza, 2016.....	32
Tabela 2 - Caracterização e análise das variáveis antropométricas e de atividade física habitual. Fortaleza, 2016.....	34
Tabela 3 - Caracterização e análise dos parâmetros bioquímicos e da pressão arterial. Fortaleza, 2016.....	37
Tabela 4 - Caracterização e análise das subfrações da lipoproteína HDL. Fortaleza, 2016.....	39
Gráfico 1 - Perfil das subfrações da lipoproteína HDL nos grupos em estudo.....	40
Gráfico 2 - Comparação entre gráficos de indivíduos com níveis de c-HDL desejáveis do sistema Quantimetrix LIPOPRINT®.....	41
Gráfico 3 - Comparação entre gráficos de indivíduos com níveis de c-HDL baixo e desejável do sistema Quantimetrix LIPOPRINT®.....	42
Tabela 5 . Caracterização e análise da capacidade antioxidante da lipoproteína HDL (Lag Time HDL). Fortaleza, 2016.....	42
Tabela 6 . Correlação entre o tamanho e a capacidade antioxidante da HDL (Lag time HDL) com a variáveis idade, IMC, CC, MG, PAS, PAD, Glicose, CT, c-HDL, c-LDL e triglicerídeos. Fortaleza, 2016.....	44

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Lipoproteínas	13
1.2 Metabolismo das lipoproteínas	13
1.3 HDL e suas subfrações	14
1.4 O metabolismo da HDL e sua participação na aterogênese	17
1.5 Mecanismo de transporte reverso de colesterol e efluxo de colesterol	18
1.6 Funções da HDL	19
1.6.1 Ação antioxidante da HDL	19
1.6.2 HDL e vasodilatação dependente do endotélio	20
1.6.3 Efeitos anti-inflamatórios diretos da HDL	21
1.7 Hipoalfalipoproteinemia	21
2 JUSTIFICATIVA	22
3 OBJETIVOS	24
3.1 Objetivo geral	24
3.2 Objetivos específicos	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1 População e tamanho da amostra	25
4.2 Tipo de Estudo	25
4.3 Critérios de inclusão	26
4.4 Critérios de exclusão	26
4.5 Avaliação socioeconômica, cultural e clínica	26
4.6 Avaliação antropométrica	26
4.7 Avaliação da atividade física habitual	28
4.8 Avaliação bioquímica	28
4.8.1 Obtenção do sangue	28
4.8.2 Marcadores do metabolismo lipídico e glicêmico	29
4.9 Análise das subclasses da lipoproteína HDL	29
4.10 Avaliação da capacidade antioxidante da lipoproteína HDL	30
4.11 Análise estatística	31
4.12 Aspectos éticos	31
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32

6 CONCLUSÃO	46
7 REFERÊNCIAS	47
ANEXOS	53
Anexo 1	53
Anexo 2	55
Anexo 3	59
Anexo 4	61

1. INTRODUÇÃO

1.1 Lipoproteínas

As lipoproteínas são complexos macromoleculares que transportam lipídeos sintetizados no fígado e no intestino (TIETZ et al., 2008). Esses complexos são constituídos por quantidades variáveis de colesterol e seus ésteres, triglicerídeos, fosfolipídeos e proteínas (apolipoproteínas), sendo solúveis no plasma devido à natureza hidrófila da porção proteica (MOTTA, 2009). As lipoproteínas permitem a solubilização e o transporte dos lipídeos, que são substâncias geralmente hidrofóbicas, no meio aquoso plasmático (XAVIER et al, 2013).

Existem quatro grandes classes de lipoproteínas separadas em dois grupos: (1) as ricas em triglicerídeos (TGs), maiores e menos densas, representadas pelos quilomícrons, de origem intestinal, e pelas lipoproteínas de densidade muito baixa ou *very low density lipoprotein* (VLDL), de origem hepática; e (2) as ricas em colesterol, incluindo as de densidade baixa ou *low density lipoprotein* (LDL) e as de densidade alta ou *high density lipoprotein* (HDL). Existe ainda uma classe de lipoproteínas de densidade intermediária ou *intermediary density lipoprotein* (IDL) e a lipoproteína (a) [Lp(a)], que resulta da ligação covalente de uma partícula de LDL à apo (a). A função fisiológica da Lp(a) não é conhecida, mas, em estudos mecanísticos e observacionais, ela tem sido associada a formação e progressão da placa aterosclerótica (XAVIER et al, 2013).

Essas diferentes lipoproteínas exercem importantes funções no organismo, principalmente quando observa-se suas vias metabólicas.

1.2 Metabolismo das lipoproteínas

Os TGs representam a maior parte das gorduras ingeridas. Após a ingestão, as lipases pancreáticas hidrolisam os TGs em ácidos graxos (AGs) livres, monoglicerídeos e diglicerídeos. Sais biliares liberados na luz intestinal emulsificam esses e outros lípidos oriundos da dieta e circulação entero-hepática, com formação de micelas. A solubilização dos lípidos sob a forma de micelas facilita sua movimentação pela borda em escova das células intestinais. A proteína Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1-L1), parte de um transportador de colesterol intestinal, está situada na membrana apical do enterócito e promove a passagem do colesterol pela borda em escova dessa célula, facilitando a absorção intestinal do colesterol (XAVIER et al., 2013).

Após serem absorvidas pelas células intestinais, as diversas partículas lipídicas, particularmente os AGs, são utilizadas na produção de quilomícrons que são, em seguida, secretados pelas células intestinais para o interior do sistema linfático, de onde alcançam a circulação pelo ducto torácico. Enquanto circulam, os quilomícrons sofrem hidrólise pela lipase lipoproteica, enzima localizada na superfície endotelial de capilares do tecido adiposo e músculos, com a liberação de AG, glicerol e de colesterol não esterificado da superfície dessas partículas. Após esse processo de lipólise, AGs são capturados por células musculares e também adipócitos, esses últimos importantes reservatórios de TG elaborados a partir de AG. Remanescentes de quilomícrons e AG também são capturados pelo fígado, onde são utilizados na formação de VLDL (XAVIER et al, 2013; MOTTA, 2009; TIETZ et al., 2008).

Na circulação, os TGs das VLDL, assim como no caso dos quilomícrons, são então hidrolisados pela lipase lipoproteica. Os AGs assim liberados são redistribuídos para os tecidos, onde podem ser armazenados, como no tecido adiposo, ou prontamente utilizados, como nos músculos esqueléticos. Por ação da lipase lipoproteica, as VLDLs, progressivamente depletadas de TG, transformam-se em remanescentes, também removidos pelo fígado por receptores específicos. Uma parte das VLDLs dá origem às IDLs, que são removidas rapidamente do plasma. O processo de catabolismo continua, envolvendo a ação da lipase hepática e resultando na formação das LDLs (XAVIER et al, 2013; MOTTA, 2009; TIETZ et al., 2008).

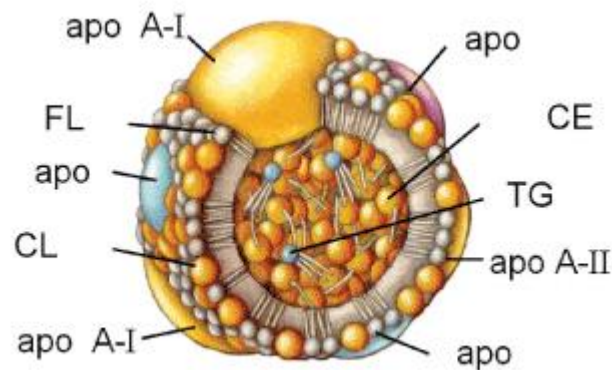
Durante a hidrólise das VLDLs, essas lipoproteínas também estão sujeitas a trocas lipídicas com as HDLs e LDLs. Por intermédio da ação da proteína de transferência do éster de colesterol ou *cholesterol ester transfer protein* (CETP), as VLDLs trocam TGs por ésteres de colesterol com as HDLs e LDLs (XAVIER et al, 2013). E as HDLs, principalmente, exercem funções essencialmente benéficas para o nosso organismo.

1.3 HDL e suas subfrações

As partículas de HDL, lipoproteína de alta densidade, representam as lipoproteínas de menor tamanho, maior densidade e maior conteúdo de proteínas, e constituem um grupo heterogêneo de pequenas partículas discoides e esféricas. Suas proteínas compreendem apolipoproteínas estruturais, enzimas, proteínas de transferência de lipídeos e outras proteínas menores (PANZOLDO, 2014).

A lipoproteína de alta densidade (HDL) é um importante fator para o metabolismo lipídico. Sua estrutura consiste em um núcleo lipídico hidrofóbico, contendo principalmente ésteres de colesterol, pequena quantidade de triacilgliceróis e colesterol não-esterificado. Esse núcleo é circundado por uma camada monofásica de fosfolipídios, colesterol não-esterificado e apolipoproteínas (Apo). As principais apolipoproteínas da HDL são apoA-I e apoA-II, embora outras, como apoA-IV, apoA-V, apoC-I, apoC-II, apoC-III, apoD e apoE possam estar presentes (**Figura 1**) (LIMA; COUTO, 2006).

Figura 1. Estrutura esférica da partícula de HDL. FL = fosfolípideo; apo = apolipoproteína; CL = colesterol; CE = colesterol esterificado; TG = triglicerídeos. (FORTI; DIAMENT, 2006)



A apoA-I, uma proteína de massa molecular de 28 kDa, é a principal apolipoproteína estrutural e funcional da HDL, correspondendo a cerca de 70% de todo conteúdo proteico da partícula (MASSEY, 2009). Os principais locais de síntese e secreção de apoA-I são o intestino e o fígado, este sendo o principal contribuinte para o seu conteúdo plasmático (KONTUSH, 2011).

A segunda principal apolipoproteína da HDL, a apoA-II, representa entre 15% e 20% da proteína total da partícula. Ela é mais hidrofóbica do que a apoA-I e é predominantemente sintetizada no fígado mas também no intestino (VAISAR, 2007).

A HDL é um transportador plasmático eficaz de proteínas envolvidas com o metabolismo lipídico, como proteína transportadora de éster de colesterol (CETP), lecitina colesterol aciltransferase (LCAT) e proteína transportadora de fosfolipídios (PLTP), fosfolipase A2 associada à lipoproteínas (Lp-PLA₂) nas quais participam

ativamente das vias metabólicas da HDL (DA SILVA; TIMM; DAMASCENO, 2013; LIMA; COUTO, 2006).

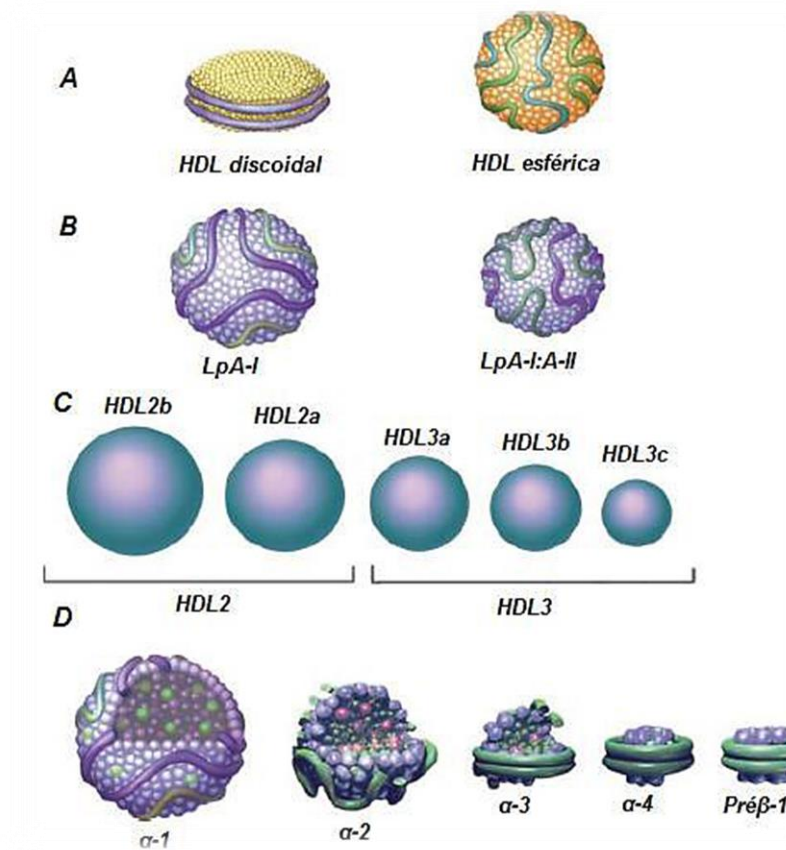
Devido à quantidade de componentes existentes nas lipoproteínas de alta densidade, há heterogeneidade das partículas de HDL plasmáticas (**Figura 2**).

Quando isoladas por centrifugação, nas lipoproteínas HDL, por exemplo, podem ser observadas duas frações predominantes de HDL: uma subfração principal, denominada HDL2, encontrada na faixa de densidade entre 1,063 e 1,125g/ml, e outra, denominada HDL3, obtida entre as densidades de 1,125 e 1,21g/ml. Uma terceira fração obtida em menor quantidade, conhecida como lipoproteína de densidade muito alta (VHDL), pode também ser isolada na faixa de densidade entre 1,21 e 1,25 g/mL (LIMA; COUTO, 2006).

As HDLs também podem ser subfracionadas em duas subpopulações, tendo como base a sua composição de apolipoproteínas: uma subpopulação com partículas contendo somente apoA-I (HDL A-I) e outra que contém as duas apolipoproteínas (HDL A-I/A-II) (SEGREST et al., 2000; WANG; GRIGGS, 2004).

Quando as partículas de HDL são separadas por eletroforese em gel de agarose, ocorrem quatro bandas de migração denominadas alfa, pré-alfa, pré-beta e gama, de acordo com as bandas observadas na separação do plasma. As partículas que migram na posição alfa são esféricas e constituem a maior proporção, na qual estão incluídas as frações HDL3 e HDL2, assim como HDL A-I e HDL A-I/A-II. As partículas conhecidas como pré- β 1 HDL são, na verdade, moléculas de apoA-I ou partículas discóides consistindo de uma ou duas moléculas de apoA-I contendo fosfolipídios e, possivelmente, uma pequena quantidade de colesterol não-esterificado. A fração gama é constituída de partículas que contêm apoE e não apoA-I (LIMA; COUTO, 2006; WARNICK; NAUCK; RIFAI, 2001).

Figura 2. Heterogeneidade das partículas de HDL. As principais subfrações de HDL diferem em forma (A), composição de apolipoproteínas (B), densidade e tamanho (C) e mobilidade eletroforética. (PANZOLDO, 2014)



Todas essas subfrações relacionadas fazem parte das várias fases existentes no metabolismo da HDL o qual está relacionado ao processo aterogênico.

1.4 O metabolismo da HDL e sua participação na aterogênese

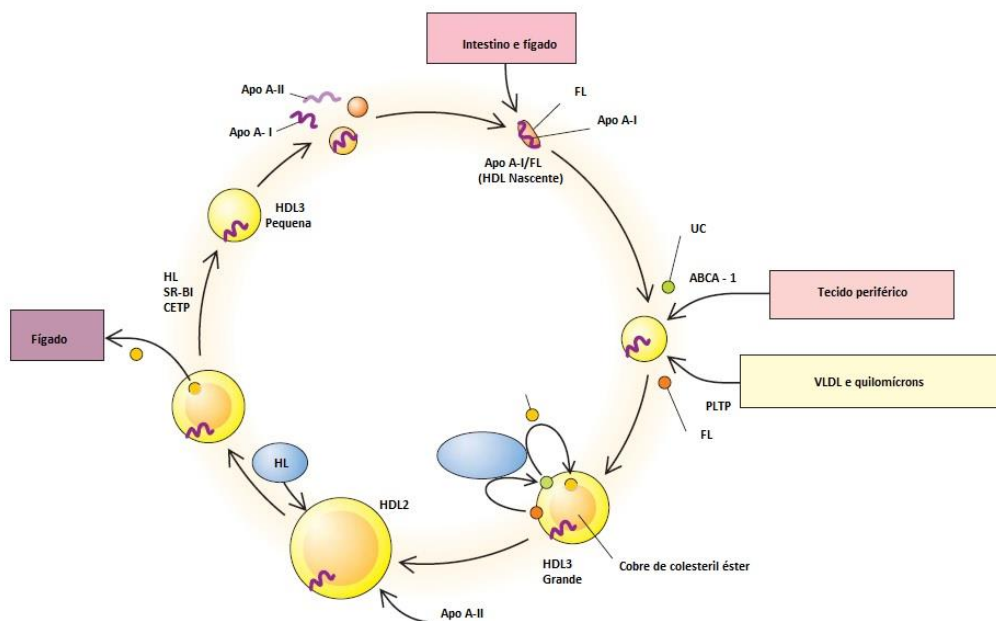
A formação da complexa HDL e seus subtipos se inicia no fígado e intestino, onde são secretados como pequenas partículas com formato discoidal, denominadas HDL pré-beta (**Figura 3**). Essas partículas são compostas basicamente de apo A-I ou apo E, fosfolípidos e colesterol livre; este compõe cerca de 10% de sua massa total (LOWENSTEIN; CAMERON, 2010a).

A HDL pré-beta rapidamente se converte em formas maduras de HDL pelo enriquecimento gradual com colesterol livre dos tecidos e sua posterior esterificação. Essa transformação é parte de uma das principais funções anti-aterogênicas da HDL, denominado transporte reverso de colesterol (ECKARDSTEIN; NOFER; ASSMANN,

2001), que poderia ser resumido em: (i) captação pela HDL de colesterol livre dos tecidos, (ii) esterificação do colesterol livre, (iii) transferência à outras lipoproteínas via Proteína de Transferência do Colesterol Esterificado (CETP) ou diretamente aos hepatócitos, e (iv) eliminação biliar e fecal do colesterol excedente. Outras funções potencialmente protetoras da HDL são: ação antioxidante, anti-inflamatória, protetora do endotélio e suas funções vasomotoras, atividade anti-agregante plaquetária, anticoagulante e fibrinolítica (ECKARDSTEIN; NOFER; ASSMANN, 2001; LOWENSTEIN; CAMERON, 2010b; NATARAJAN; RAY; CANNON, 2010).

Desse modo, para compreender a importância da lipoproteína HDL na prevenção da aterosclerose, é fundamental entender o transporte reverso e o efluxo de colesterol.

Figura 3. Via circular da formação e degradação da lipoproteína de alta densidade (HDL). FL = fosfolipídeos; Apo = apolipoproteína; ABCA-1 = transportador de cassete ligado a ATP A1; PLTP = proteína transportadora de fosfolipídios; HL = lipase hepática; CETP = proteína transportadora de éster de colesterol; SR-B1 = scavenger-receptor, classe B tipo 1. (BRUNZELL; FAILOR, 2010)



1.5 Mecanismo de transporte reverso de colesterol e efluxo de colesterol

Este é o mecanismo pelo qual o colesterol livre é retirado das membranas das células extra-hepáticas pela HDL. A remoção do colesterol livre das células da parede

arterial se dá primordialmente pela transferência via receptores “ATP-binding cassette transporter” tipos 1 (ABCA1) e 4 (ABCA-4). Após a transferência do colesterol livre, a Lecitina-Colesterol Aciltransferase (LCAT), produzida pelo fígado e transportada na superfície da HDL, atua transformando-o de hidrofílico para hidrofóbico, a forma esterificada do colesterol (CE) (ZHANG et al., 1998).

O colesterol esterificado pode ser transferido aos hepatócitos por diversos mecanismos. Cerca de 70% do transporte reverso utiliza a via da CETP, transferindo colesterol do núcleo da HDL para lipoproteínas que contêm apo B e que são ricas em triglicerídeos (TG), como quilomícrons remanescentes ou até mesmo Lipoproteínas de Muito Baixa Densidade (VLDL). Ambas as lipoproteínas, após enriquecimento com CE, sofrem endocitose nos hepatócitos por meio de receptores específicos como o receptor de LDL e o “lipoprotein-related receptor” (LRP). Como segundo mecanismo, a HDL pode transferir o CE aos hepatócitos por meio de receptores específicos como o “scavenger-receptor, classe B tipo 1” (SR-B1) (ECKARDSTEIN; NOFER; ASSMANN, 2001).

Conhecendo-se os mecanismos de transporte reverso do colesterol, realizadas pela HDL, destaca-se, a seguir, outras funções da lipoproteína HDL.

1.6 Outras funções da HDL

1.6.1 Ação antioxidante da HDL

O aumento do volume das lipoproteínas de baixa densidades (LDL), composto por colesterol, triglicerídeos e Apolipoproteína B-100) ou do seu tempo de permanência na circulação sanguínea facilita sua modificação, em especial a oxidação, tornando-a uma partícula pró-inflamatória. Este processo é acentuado pela presença de fatores de risco que, por provocarem dano à parede arterial, desencadeiam inflamação e geração de espécies reativas de oxigênio (ERO). A LDL modificada é retida na camada íntima e gera uma cascata inflamatória com produção crescente de ERO por células endoteliais, macrófagos e células musculares lisas do vaso. A atividade inflamatória assim desencadeada, favorece simultaneamente a aterogênese e a predisposição à modulação das placas ateroscleróticas para um fenótipo instável, com maior possibilidade a ruptura e desencadeamento de evento coronariano trombo-oclusivo. A LDL oxidada também pode favorecer a formação de peroxinitritos, que resultam em menor disponibilidade de óxido nítrico (NO)(YUHANNA et al., 2001).

A HDL limita a oxidação da LDL por diversos mecanismos. O mais bem elucidado mecanismo é promovido pela ação de proteínas carregadas na HDL, dentre as quais se destacam: Paraoxonase, Fosfolipase A-2 associada à lipoproteína, Glutathione-peroxidase, α -tocoferol, licopeno, estrógenos, e às propriedades antioxidantes da apoA-I e apoA-II (STEIN; STEIN, 1999). Outros mecanismos pelos quais a HDL pode reduzir o volume de partículas de LDL oxidadas são: a inibição da migração leucocitária intimal, limitando a geração de ERO, a transferência dos lípidos oxidados da LDL para a HDL, a inibição da atividade do fator nuclear kappa-B (NF- κ B), atenuando a síntese da “nicotinamida adenine dinucleotide phosphate oxidase” (NADP oxidase), e pela hidrólise de moléculas de colesterol oxidadas na LDL por meio da ação da LCAT (LOWENSTEIN; CAMERON, 2010; STEIN; STEIN, 1999).

Destaca-se, ainda, outros efeitos como na reatividade vascular.

1.6.2 HDL e vasodilatação dependente do endotélio

O NO (óxido nítrico) é uma molécula de sinalização que induz o relaxamento da musculatura lisa das artérias e é produzida primariamente nas células endoteliais pela enzima NO sintase (eNOS). Sua produção e catabolismo são elementos essenciais para modulação da vasorregulação e controle do fluxo sanguíneo e resistência arterial pelo endotélio (YUHANNA et al., 2001). Estudos em modelos celulares indicam que partículas de HDL ativam o receptor *scavenger receptor-B1* pela interação com a apo AI, induzindo a síntese de NO pelas células endoteliais. Em estudos clínicos, tem sido descrita associação positiva entre a concentração de HDL no plasma e a produção do NO, tanto em indivíduos saudáveis, quanto em indivíduos diabéticos ou com doença aterosclerótica coronariana manifestada (CALABRESI; GOMARASCHI; FRANCESCHINI, 2003; YUHANNA et al., 2001).

Concomitantemente, a HDL induz a liberação de outro vasodilatador, a Prostaglandina I₂ (PGI₂). Em culturas de células endoteliais, a HDL influencia a liberação desta molécula com um efeito concentração-dependente (FLEISHER et al., 1982). Além disso, a HDL inibe a secreção de endotelina-1 pelas células endoteliais, um efeito contrário ao induzido pela LDL (UNOKI; JIANGLIN; WATANABE, 1999).

Soma-se ao efeito vasodilatador possíveis efeitos anti-inflamatórios da lipoproteína HDL.

1.6.3 Efeitos anti-inflamatórios diretos da HDL

Há vários mecanismos descritos pelos quais a HDL é capaz de inibir o processo inflamatório na parede arterial. Por sua natureza central na ativação da resposta inflamatória, julga-se como principal a inibição da ativação do fator de transcrição NF- κ B (BARTER et al., 2004).

Com essa inibição, a HDL pode atenuar a síntese de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral, interleucinas 6 e de moléculas de adesão como a E-selectina, VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule – 1*) e ICAM-1 (*intercelular adhesion molecule – 1*). Em paralelo, a HDL pode atenuar a atividade inflamatória por seu efeito antioxidante, pela ligação direta a lipopolissacarídeos, pelo aumento da síntese de NO e ativação das vias fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K)/Akt, cálcio/calmodulina quinase, proteína quinase C e mitógeno p38-proteína quinase (SÄEMANN et al., 2010).

Além disso, a composição molecular da HDL influencia diretamente sua interação com o sistema imuno-inflamatório. O aumento do conteúdo de TG, por exemplo, tem associação direta com a atividade inflamatória sistêmica (PATEL et al., 2009).

A lipoproteína HDL exerce muitas funções benéficas no organismo. Dessa forma, a redução da concentração da HDL pode acarretar muitos problemas de saúde, assim como verificado em hipoalfalipoproteinemias.

1.7 Hipoalfalipoproteinemia

Existe uma gama de doenças que cursam com níveis baixos de HDL. É possível separá-las em doenças primárias ou secundárias, sendo estas últimas as mais prevalentes e associadas à hipertrigliceridemia.

Em relação às causas primárias, são comuns desordens genéticas que cursam com a diminuição da produção, aumento na captação hepática ou aumento da metabolização da HDL. Além disso, desordens qualitativas têm sido descritas como defeitos na produção de proteínas que participam dos mecanismos de atuação da HDL nas suas diversas funções antiaterogênicas. As doenças mais comuns são: Hipoalfalipoproteinemia familiar, Deficiência familiar de Apo AI e de Apo CIII, Deficiência de LCAT, Doença do olho de peixe (que é uma manifestação da deficiência

da LCAT) e a Doença de Tangier (mutação no gene da ABCA-1) (BERTOLINI et al., 2003).

Em relação às causas secundárias, a redução do HDL-colesterol é observada tanto em indivíduos com alterações inatas do metabolismo dos TG como, por exemplo, na mutação da lipase lipoproteica, quanto naqueles com hipertrigliceridemias secundárias. O aumento do volume de lipoproteínas ricas em TG na circulação sanguínea facilita o enriquecimento da HDL em troca por colesterol éster via CETP, conforme descrito acima. O TG abundante na HDL é hidrolisado pela LH (lipase hepática), reduzindo as dimensões, aumentando a densidade e estimulando a perda de apolipoproteínas de superfície da HDL como, por exemplo, os fosfolípidos e a apo AI. O enriquecimento em TG, a redução do tamanho da HDL e do conteúdo de apo AI reduzem conjuntamente sua capacidade aceptora de colesterol livre dos tecidos, etapa inicial do transporte reverso (BRITES et al., 2000; MILLER; LANGENBERG; HAVAS, 2012).

Devido à complexidade que a lipoproteína de alta densidade tem, principalmente relacionado às suas funções no metabolismo lipídico e seus benefícios, pode-se ver a sua importância em relação às alterações metabólicas decorrentes de sua modificação estrutural e funcional, favorecendo o desenvolvimento das doenças cardiovasculares (DCVs).

2. JUSTIFICATIVA

Segundo a Organização Mundial da Saúde, as DCVs são responsáveis por 30 % de 50 milhões de mortes no mundo ocorrido nas últimas décadas, ou seja, 17 milhões de pessoas. Este índice se torna igualmente alarmante quando se observa o Brasil, segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia.

Existem vários fatores, sejam eles genéticos ou adquiridos, que podem aumentar as chances de um indivíduo ter doenças cardiovasculares. Um desses fatores é a diminuição das concentrações de c-HDL.

Se há alguma modificação na concentração, tamanho e funcionalidade da HDL pode haver alguma alteração nas suas funções benéficas exercidas no organismo e no metabolismo lipídico. Por isso que, cada vez mais, estudos buscam analisar fatores que podem influenciar a quantidade, constituição e ação da lipoproteína de alta densidade.

Este estudo, por exemplo, busca entender possíveis fatores que possam contribuir para alteração das concentrações de c-HDL e, conseqüentemente, no tamanho das partículas de HDL e suas capacidades antioxidantes. Por exemplo, em casos de modificações do metabolismo dos triglicérides há associação com concentrações baixas de c-HDL, mas o impacto desse lipídeo sobre outros componentes da HDL ainda não está totalmente claro.

Dessa forma, esta pesquisa ajudará além de estudos que seguem a mesma linha de pesquisa, no pensamento crítico de critérios diagnósticos usados para pacientes que sofrem com alterações metabólicas no metabolismo lipídico.

Um aspecto intrigante que se apresenta na prática cardiológica, também relativa ao metabolismo lipídico, é a constatação de eventos coronarianos em pacientes de ambos os sexos, portadores de HDL em concentrações aceitas como protetoras. Nesse caso, quais seriam as causas da não-proteção? Haveria perda da eficiência da HDL, ou seu papel seria sobrepujado por outros fatores de risco genéticos ou adquiridos? São questões que impulsionam este projeto e outros estudos.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Analisar o tamanho e a capacidade antioxidante da HDL, perfil glicolipídico e antropométrico de indivíduos com normo ou hipoalfalipoproteinemia.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar as características socioeconômicas, culturais e clínicas dos indivíduos inclusos no estudo;
- Analisar o perfil glicolipídico, antropométrico e o escore de atividade física habitual dos indivíduos inclusos no estudo;
- Analisar o tamanho e a capacidade antioxidante da HDL dos indivíduos inclusos no estudo;
- Correlacionar o tamanho e a capacidade antioxidante da HDL com o perfil glicolipídico, antropométrico e o escore de atividade física habitual dos indivíduos inclusos no estudo.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 População e tamanho da amostra

Participaram do estudo 260 indivíduos. Destes 130 foram incluídos no espaço amostral de acordo com os critérios de inclusão e exclusão, posteriormente, descritos. Os 130 pacientes incluídos foram divididos em 4 grupos, de acordo com o resultado dos parâmetros bioquímicos de colesterol-HDL (c-HDL) e triglicerídeos (TG).

O grupo 1 (c-HDL < 40 mg/dL e TG < 150 mg/dL), composto por 37 indivíduos; o grupo 2 (c-HDL < 40 mg/dL e TG > 200 mg/dL), composto por 32 indivíduos; o grupo 3 (c-HDL > 60 mg/dL e TG < 150 mg/dL), composto por 50 indivíduos; o grupo 4 (c-HDL > 60 mg/dL e TG > 200 mg/dL), composto por 11 indivíduos.

A divisão dos grupos mostrada acima foi proposta para realizar comparações entre os grupos de indivíduos que apresentam c-HDL baixo (grupo 1 e 2) com indivíduos que apresentam c-HDL desejável (grupo 3 e 4). Ressaltando a influência do nível de triglicerídeos o qual é preditor direto no transporte via CETP, na troca de colesterol esterificado por triglicerídeos, diferenciou-se os grupos em pacientes que têm hipertrigliceridemia (grupo 2 e 4) e os que não têm (grupo 1 e 3). Então, as análises foram feitas comparando os grupos 1 e 3, e os grupos 2 e 4, principalmente.

Os níveis de c-HDL baixo (< 40 mg/dL) e desejável (> 60 mg/dL), e triglicerídeos desejável (< 150 mg/dL) e alto (> 200 mg/dL) foram de acordo com a V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção de Aterosclerose (SBC, 2013).

Os indivíduos voluntários do estudo foram selecionados, através de uma pesquisa documental e atendidos no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas (LACT) vinculado à Universidade Federal do Ceará (UFC).

A amostragem foi não probabilística do tipo conveniente, no qual cada indivíduo foi admitido segundo os critérios de inclusão e exclusão.

4.2 Tipo de estudo

O estudo foi observacional analítico e realizado no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas (LACT), localizado em Fortaleza – CE, vinculado à Universidade Federal do Ceará (UFC).

Uma prévia pesquisa documental foi feita com os indivíduos atendidos pelo referido laboratório para uma posterior busca de voluntários para o estudo. Os

indivíduos selecionados, posteriormente, foram convidados para participar da pesquisa via telefone. A coleta de dados foi realizada no período de janeiro a julho de 2016.

4.3 Critérios de inclusão

Foram considerados elegíveis os indivíduos, com idade de 20 a 75 anos de ambos os sexos, com níveis baixos de c-HDL (hipoalfalipoproteinemia) para compor os grupos 1 e 2, bem como indivíduos com taxas desejáveis de HDL para compor os grupos 3 e 4. Também, foram incluídos indivíduos com níveis desejáveis e altos de triglicerídeos. Essa classificação permitiu a divisão dos grupos já citados.

4.4 Critérios de exclusão

Não foram incluídos indivíduos que estivessem fora da faixa etária especificada anteriormente; indivíduos com níveis de c-HDL e triglicerídeos na margem limite (limítrofe); indivíduos que estivessem usando estatinas ou fibratos. Ainda, indivíduos desnutridos, grávidas ou lactentes, alcoolistas, fumantes e usuários de drogas ilícitas.

4.5 Avaliações socioeconômica, cultural e clínica

O perfil socioeconômico foi avaliado por meio de formulário estruturado (**Anexo 1**), relacionando características sobre sexo, raça, como variáveis qualitativas nominais; renda familiar e número de indivíduos que moram na casa como variáveis qualitativas ordinais; e idade como uma variável quantitativa.

A avaliação clínica foi constituída pelas informações sobre história clínica atual, antecedentes familiares de doenças crônicas (pai e mãe), uso regular de medicamentos e/ou vitaminas como variáveis qualitativas nominais; aferição da pressão arterial sistêmica através de esfigmomanômetro como variável quantitativa.

4.6 Avaliação antropométrica

Foram coletados os seguintes dados antropométricos: massa corporal (Kg), estatura (m) e circunferência da cintura (cm), que são variáveis quantitativas.

A massa corporal foi mensurada com os participantes utilizando o mínimo de roupas e descalços, através da balança digital com limite de capacidade de 150,0 Kg e precisão de 100,0 g. A medida da estatura foi realizada por meio do estadiômetro portátil com limite de 2,1 m e precisão de 1,0 mm, estando os indivíduos descalços, em

posição ereta, com os pés paralelos, calcanhares, panturrilha, glúteos, ombros e cabeça encostados no estadiômetro, com a cabeça sob o plano horizontal de Frankfurt. Esses dados foram utilizados para cálculo do índice de massa corporal (IMC), definido como a massa corporal em quilogramas pela estatura em metros quadrados (Kg/m^2). O valor do IMC foi classificado de acordo com a OMS (Organização Mundial da Saúde) (2003).

Utilizando uma fita inelástica, flexível, com precisão 1,0 mm, foi coletado a medida da circunferência da cintura, adotando-se como referencial anatômico o ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca. O paciente foi orientado a permanecer com o abdômen relaxado, ficar em pé, manter os braços paralelos ao corpo e pés unidos. Os valores de circunferência da cintura foram classificados considerando os valores propostos pela OMS (2004).

A avaliação da porcentagem de massa gorda corporal foi realizada através do equipamento de Bioimpedância Biodynamics 450[®].

Figura 4. Posicionamento correto ao realizar a análise de bioimpedância no equipamento Biodynamics 450[®].



Para tanto, os indivíduos foram posicionados em decúbito dorsal, em posição confortável e relaxados, com os membros superiores ao longo do corpo e os inferiores em extensão e abduzidos de forma a manter uma distância aproximada de 15 a 20 cm entre os mesmos (**Figura 4**). O membro superior direito foi posicionado a aproximadamente 15 cm do tronco, punho em posição neutra, apoiado na maca e dedos em extensão. Na região dorsal da mão, o eletrodo distal injetor de corrente foi posicionado na base da terceira falange proximal e o eletrodo proximal detector de voltagem no eixo da articulação rádio-cárpica, entre o processo estilóide da ulna e do

rádio. Com o membro inferior direito relaxado, o eletrodo distal injetor de corrente foi posicionado na região dorsal do pé, na base da terceira falange proximal e o eletrodo proximal detector de voltagem na linha da articulação do tornozelo, face anterior, entre os maléolos interno e externo.

4.7 Avaliação da atividade física habitual

Foi aplicado um questionário para avaliar a atividade física habitual (AFH) no momento do atendimento dos pacientes. Conforme as respostas apresentadas, foi calculado o escore total de atividade física segundo preconizado pelo estudo de Baecke (1982) (FLORINDO; LATORRE, 2003)

O questionário de AFH de Baecke e colaboradores teve sua origem na Holanda e foi publicado em 1982. Ele fornece três escores de atividades físicas dos últimos 12 meses, caracterizados por atividades ocupacionais (AFO), exercícios físicos no lazer (EFL) e atividades de lazer e locomoção (ALL) (**Anexo 2**) (BAECKE; BUREMA; FRIJTERS, 1982). O instrumento tem sido empregado em pesquisas epidemiológicas num contexto mundial (FOLSOM et al., 1997; PEREIRA et al., 1999). No Brasil, foi utilizado analisando o escore de AFH como variável quantitativa contínua e categórica. (FLORINDO et al., 2004; SARDINHA et al., 2010).

4.8 Avaliação bioquímica

4.8.1 Obtenção de sangue

Amostras sanguíneas (20 mL) foram coletadas após jejum prévio de 12 horas. O sangue foi coletado em três tubos à vacuo, um contendo ácido etileno-diaminotetraacético-EDTA (1,0 mg/mL) (BD, Brasil), utilizado para a obtenção do plasma o qual foi usado para avaliar o tamanho das lipoproteínas HDL; os outros dois sem anticoagulante para obtenção do soro, o qual foi usado para avaliar a capacidade antioxidante da HDL e determinar o perfil glicolipídico.

Todo o material biológico foi mantido em gelo e protegido da luz até a obtenção do plasma e do soro. Após as análises do perfil glicolipídico, as amostras foram armazenadas a -80°C até o momento das análises do tamanho e funcionalidade da HDL.

4.8.2 Marcadores do metabolismo lipídico e glicêmico

Através da aplicação de reagentes enzimáticos (Bioclin[®] e Labtest[®]) utilizando o aparelho Mindray BS200[®], foram analisadas as concentrações de glicose, colesterol total, triglicerídeos e c-HDL no soro como variáveis quantitativas. O conteúdo de colesterol associado à LDL foi determinado por meio da fórmula de Friedewald, Levy e Fredrickson (1972), onde: $LDL-C = CT - HDL-C - TG/5$. Essa fórmula só foi aplicada para os indivíduos com $TG < 400,0$ mg/dL (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972).

Para classificação dos pacientes, segundo o perfil lipídico, foram utilizados os valores de referência propostos pela V Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (SBC, 2013).

4.9 Análise das subclasses da lipoproteína HDL

O tamanho da HDL e suas subfrações foram determinados através do Lipoprint System (Quantimetrix[®]). Esse sistema utiliza eletroforese linear em gel de poliacrilamida não desnaturante para separar e quantificar as frações e subfrações de lipoproteínas. O teste utiliza um corante lipofílico, que se liga ao colesterol nas partículas de lipoproteínas antes da eletroforese. Os tubos passaram por eletroforese e foram escaneados para determinar a área relativa de cada subfração da lipoproteína e, posteriormente, a intensidade da área integrada foi multiplicada pela concentração de c-HDL total da amostra, sendo determinada a quantidade de colesterol em cada subfração.

Para realizar esse procedimento, 25 µl de plasma foi acrescentado aos tubos de gel e, posteriormente, adicionados 300 µl da solução gel do Kit de determinação do tamanho da HDL. Após homogeneização e fotopolimerização das amostras por 35 minutos, as lipoproteínas foram separadas por eletroforese no intervalo de 1h a 3 mA.

Para HDL são identificadas 10 subfrações (HDL-1 a HDL-10), agrupadas do seguinte modo: grande (HDL-1 a HDL-3), intermediárias (HDL-4 a HDL-7) e pequenas (HDL-8 a HDL-10), sendo apresentadas em porcentagem ou em valores absolutos (variável quantitativa contínua). Todas essas análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Humana da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP-USP).

4.10 Avaliação da capacidade antioxidante da lipoproteína HDL

A capacidade antioxidante da HDL foi avaliada por meio do ensaio de Lag Time proposto por Ziouzenkova et al (1998), sendo a HDL dos pacientes obtida por precipitação usada como substrato antioxidante (variável quantitativa).

O princípio da análise é que ao misturar uma solução concentrada de LDL com sulfato de cobre haverá uma produção de dienos conjugados como resultado da oxidação da LDL. Ao adicionar HDL nessa mistura, espera-se que reduza a oxidação da LDL. Assim, a análise vai nos mostrar a quantidade de tempo (*lag time*) que a HDL consegue impedir a oxidação da LDL por sulfato de cobre. E para aprofundarmos mais nessa análise, adiante tem-se o procedimento de como se realiza a avaliação da capacidade antioxidante da HDL.

Primeiramente, as amostras de soro foram preparadas para a obtenção da HDL por método de precipitação das lipoproteínas que apresentam Apo-B, dessa forma, a lipoproteína HDL que não possui Apo-B na sua constituição, fica no sobrenadante. Misturou-se 100 µL da amostra com 100 µL do reagente precipitante em um tubo eppendorff de 1,5 mL, sendo homogeneizado por 30 segundos com posterior centrifugação a 3500 rpm por 15 minutos. Em seguida, foi retirado o sobrenadante o qual foi colocado em um novo tubo eppendorff de 500 µL.

Das amostras de HDL obtidas, foi retirado alíquotas para diluir com PBS sem EDTA (1:50). Essa diluição serviu para a dosagem de proteínas pelo método de Bradford.

Com a dosagem de proteínas pôde-se realizar a análise do *Lag Time* da HDL propriamente dito. Primeiro diluiu-se as amostras de HDL até a concentração de 0,2 µg/µL, preparando para um volume total de 1000 µL, tendo como referência a concentração de proteínas obtida de cada amostra. Em seguida, preparou-se uma diluição de LDL isolada com PBS sem EDTA (0,083 µg/µL). Com essas preparações, foi adicionado 100 µL de HDL diluída em duplicata em poços de placa de ELISA (300 µL), acrescido de 150 µL de LDL diluída. Homogeneizou-se a placa por 1 minuto para colocar na estufa por 15 minutos a 37 °C. Depois, foi adicionado 50 µL de CuSO₄ 30 µM em cada poço e, imediatamente, foi iniciado a leitura em espectrofotômetro de 10 em 10 minutos durante 5 horas com absorvância de 235 nm.

Vale ressaltar que foram utilizados controle negativo (150 µL de LDL + 150 µL de PBS sem EDTA), controle positivo (150 µL de LDL + 55 µL de PBS sem EDTA +

45 µL de TROLOX [alto poder antioxidante] 30 µM + 50 µL de CuSO₄ µM) e controle para a eficiência da solução de sulfato de cobre em duplicata (150 µL LDL + 100 µL PBS sem EDTA + 50 µL Cu SO₄).

4.11 Análise estatística

Todos os resultados, variáveis qualitativas e quantitativas, foram apresentados sob a forma de tabelas e gráficos confeccionados no programa Microsoft Excel 2010.

Para as variáveis qualitativas, utilizou-se teste chi-quadrado (χ^2) e os resultados foram apresentados em valores absolutos seguido da sua respectiva porcentagem.

Para a determinação dos testes utilizados, foi considerado o tipo de distribuição das variáveis as quais foram apresentadas, anteriormente, no decorrer das descrições dos materiais e métodos.

As variáveis quantitativas foram apresentadas sob a forma de média e DP (desvio padrão).

Para as variáveis normais ou paramétricas foi realizado o teste ANOVA com pós-teste de Tukey.

Para as demais variáveis, foi utilizado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis.

Todos os testes estatísticos foram realizados com o auxílio do programa *Statistical Package for the Social Sciences*[®] (SPSS), versão 16.0 (SPSS Incorporation, 2007). O valor de significância considerado foi de $p < 0,05$.

4.12 Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa no dia 29/05/15 com o número CAAE 44550015.0.0000.5054 (**Anexo 4**). A coleta de dados foi realizada somente após obtenção da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelos pacientes (**Anexo 3**). Todos os procedimentos de obtenção e divulgação de informações seguiram as normas estabelecidas pelo Conselho Nacional de Saúde, item de Ética em Pesquisas com Humanos (BRASIL, 1996). Seguindo também as normas mencionadas na resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da amostra final de 130 indivíduos, foi realizada a caracterização socioeconômica, cultural e clínica (**Tabela 1**) através de um formulário estruturado aplicado por meio de entrevista direta e por pesquisador previamente treinado.

Com o formulário observou-se que os grupos com concentração de triglicerídeos alto (G2 e G4), independente da concentração de c-HDL, tinham idade mais avançada que os grupos 1 e 3.

Tal fato é mencionado no estudo de Tereshina e Ivanenko (2014) o qual descreve sobre a relação idade e obesidade, mostrando que no processo de envelhecimento humano observa-se um aumento na quantidade total de gordura, principalmente, devido à acumulação de lipídeos nos tecidos não-adiposos.

Tabela 1. Caracterização e análise das variáveis socioeconômicas, culturais e clínicas dos pacientes. Fortaleza, 2016.

Variáveis	Grupo 1 (n=37)	Grupo 2 (n=32)	Grupo 3 (n=50)	Grupo 4 (n=11)	p
Idade (anos)	37±14	49±11*	34±12	50±19*	(<0,001) ^a
Sexo					(<0,001) ^b
Masculino	22 (59,5)*	20 (62,5)*	8 (16,0)	3 (27,3)	
Feminino	15 (40,5)	12 (37,5)	42 (84,0)*	8 (72,7)*	
Raça					(0,307) ^b
Branco	12 (32,4)	12 (37,5)	14 (28,0)	5 (45,4)	
Negro	2 (5,4)	5 (15,6)	2 (4,0)	0 (0,0)	
Pardo	20 (54,1)	14 (43,8)	29 (58,0)	6 (54,6)	
Amarelo	3 (8,1)	0 (0,0)	5 (10,0)	0 (0,0)	
Indígena	0 (0,0)	1 (3,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Estado Civil					(0,011) ^b
Solteiro	17 (45,9)	9 (28,1)	36 (72,0)	4 (36,3)	
Casado	14 (37,8)	17 (53,1)	11 (22,0)	3 (27,3)	
Viúvo	1 (2,7)	3 (9,4)	0 (0,0)	1 (9,1)	
Divorciado	4 (10,8)	3 (9,4)	3 (6,0)	3 (27,3)	
Outros	1 (2,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Escolaridade					(0,001) ^b
Ensino Fundamental	9 (24,3)	2 (6,3)	3 (6,0)	1 (9,2)	
Ensino Médio	9 (24,3)	25 (78,1)	15 (30,0)	5 (45,4)	
Ensino Superior	18 (48,6)	5 (15,6)	32 (64,0)	5 (45,4)	
Outros	1 (2,8)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Renda individual					(0,279) ^b
< 1 SM	7 (18,9)	3 (9,5)	13 (26,0)	4 (36,4)	
1 - 5 SM	27 (73,0)	28 (87,6)	31 (62,0)	5 (45,4)	

6 - 10 SM	2 (5,4)	1 (2,9)	5 (10,0)	2 (18,2)	
> 10 SM	1 (2,7)	0 (0,0)	1 (2,0)	0 (0,0)	
Doenças crônicas					(0,050)^b
Sim	16 (43,2)	17 (53,1)	14 (28,0)	7 (63,6)	
Não	21 (56,8)	15 (46,9)	36 (72,0)	4 (36,4)	
Fatores de risco cardiovascular					(0,010)^b
Sim	37 (100,0)	32 (100,0)	38 (76,0)	10 (90,9)	
Não	0 (0,0)	0 (0,0)	12 (24,0)*	1 (9,1)	
Medicamentos					(0,008)^b
Sim	14 (37,8)	19 (59,4)*	11 (22,0)	4 (36,4)	
- <i>Anti-hipertensivo</i>	6 (75,0)	8 (57,1)	3 (75,0)	1 (100,0)	
- <i>Hipoglicemiante</i>	2 (25,0)	6 (42,9)	1 (25,0)	0 (0)	
Não	23 (62,2)	13 (40,6)	39 (78,0)*	7 (63,6)	

A variável idade tem seus valores expressos em média \pm desvio padrão; variáveis qualitativas são apresentadas em valores absolutos, seguida da respectiva porcentagem (em parenteses); doenças crônicas foram autorelatadas; os fatores de risco cardiovascular autorelatados foram a idade avançada e o histórico familiar de doenças cardiovasculares em parentes de 1º grau, e os fatores de risco avaliados foram hipertensão arterial sistêmica, concentração da HDL baixa (< 40 mg/dL), concentração da LDL alta (> 160 mg/dL) e concentração de colesterol total acima de 200 mg/dL; EF=Ensino Fundamental; EM=Ensino Médio; ES=Ensino Superior; SM=Salário Mínimo; grupo 1 (c-HDL < 40 mg/dL e TG < 150 mg/dL); grupo 2 (c-HDL < 40 mg/dL e TG > 200 mg/dL); grupo 3 (c-HDL > 60 mg/dL e TG < 150 mg/dL); grupo 4 (c-HDL > 60 mg/dL e TG > 200 mg/dL); diferença significativa: * ($p < 0,05$); a=teste de Kruskal-Wallis; b=teste de qui-quadrado.

Em relação ao gênero dos grupos, foram atendidos pelo estudo mais mulheres em relação aos homens. O sexo feminino mostrou-se mais presente nos grupos 3 e 4 os quais são caracterizados por terem os níveis de c-HDL em níveis desejáveis.

A quantidade de mulheres se torna mais evidente, ainda, no grupo 3 o qual dentre os grupos contém as pessoas mais saudáveis.

Essa situação é esperada, pois comparando a prevenção, procura e cuidado com a saúde entre homens e mulheres, as mulheres são mais sucedidas. Isso é bem discutido no estudo de Schraiber et al. (2010) no qual se observa relatos de homens e de mulheres sobre as necessidades de saúde. O estudo afirma que os homens preferem retardar ao máximo a busca por assistência e só o fazem quando não conseguem mais lidar sozinhos com os seus sintomas. Demonstram, ainda, que a prevenção ou promoção da saúde são práticas tidas como obrigatórias “naturalmente” para as mulheres.

Observando-se a raça dos indivíduos entre os grupos, não houve diferença significativa (**Tabela 1**), mas vale ressaltar que entre a amostra total as etnias mais

frequentes foram pardo e branco. Esta proporção também é comum em outros estudos brasileiros (FERREIRA et al., 2009; BARBATO et al., 2007)

Em relação ao estado civil, a maioria dos pacientes atendidos era solteira, tinham como nível de escolaridade o ensino médio completo e a renda individual ficava entre 1 a 5 salários mínimos (**Tabela 1**).

Quando se fala na prevalência de doenças crônicas, como diabetes melitus, hipertensão arterial, hipotireoidismo, doença hepática e outros, entre os grupos não houve diferença significativa, mas observou-se uma prevalência maior no grupo 2 que apresenta concentrações do perfil glicolipídico fora da faixa desejável.

O perfil de doenças crônicas autorelatadas foi confirmado pela diferença na frequência de medicamentos autorelatados entre os grupos. Por exemplo, os medicamentos mais utilizados pelos indivíduos atendidos pelo estudo foram anti-hipertensivos e hipoglicemiantes, estes, de acordo com a tabela 1, foram mais consumidos por indivíduos que compõem o grupo 2.

Em contrapartida tem-se o grupo 3 que apresenta indivíduos com menos doenças crônicas, menor consumo de medicamentos, como os anti-hipertensivos e hipoglicemiantes, e uma frequência menor de fatores de risco cardiovasculares: PA (pressão arterial) > 140/90 ou uso de anti-hipertensivo; c-HDL < 40 mg/dl; colesterol total > 200 mg/dL; LDL > 160 mg/dL; Idade > 45 anos para os homens e >55 anos para as mulheres; e, histórico familiar de doenças cardiovasculares em parentes de 1ª grau (SBC, 2013).

Somando as características de cada grupo têm-se as variáveis antropométricas usadas por nutricionistas e educadores físicos para a promoção de hábitos de vida saudáveis.

Com as variáveis antropométricas apresentadas na **tabela 2**, diferenças significativas foram observadas entre os grupos com as variáveis peso, IMC (índice de massa corpórea), CC (circunferência da cintura).

A porcentagem de massa gorda (MG) apresentou diferença significativa somente entre indivíduos do gênero masculino dos diferenciados grupos.

Tabela 2. Caracterização e análise das variáveis antropométricas e de atividade física habitual. Fortaleza, 2016.

Variáveis	Grupo 1 (n=37)	Grupo 2 (n=32)	Grupo 3 (n=50)	Grupo 4 (n=11)	p
Altura (m)	1,95±0,23	1,88±0,34	1,98±0,14	1,81±0,40	(0,128) ^b
Peso (Kg)	92,94±98,12*	83,28±17,12*	63,82±13,52	63,55±13,73	(<0,001) ^b
IMC (Kg/m ²)	33,80±37,03*	31,19±4,42*	24,69±4,33	25,12±3,49	(<0,001) ^b
CC (cm)					
Homens	86,1±22,6	102,9±9,4*	87,3±12,8	96,2±13,0*	(0,014) ^a
Mulheres	84,4±10,3	92,5±8,9*	76,8±9,5	80,4±6,0	(<0,001) ^a
MG (%)					
Homens	25,8±5,9	29,6±5,3*	20,7±6,6	29,0±6,0*	(0,005) ^a
Mulheres	32,3±4,9	34,8±6,0	30,7±5,2	34,4±5,2	(0,062) ^a
AFH	7,73±1,68	7,41±1,24	7,50±1,52	7,00±2,31	(0,716) ^b

As variáveis têm seus valores expressos em média ± desvio padrão; IMC=índice de massa corpórea; CC=Circunferência da cintura; MG=massa gorda; AFH=atividade física habitual; grupo 1 (c-HDL < 40 mg/dL e TG < 150 mg/dL); grupo 2 (c-HDL < 40 mg/dL e TG > 200 mg/dL); grupo 3 (c-HDL > 60 mg/dL e TG < 150 mg/dL); grupo 4 (c-HDL > 60 mg/dL e TG > 200 mg/dL); diferença significativa: * (p<0,05); a=teste de ANOVA com pós-teste de Tukey; b=teste de Kruskal-Wallis.

O peso (G1 = 92,94 Kg, G2 = 83,28 Kg; p<0,05) e o IMC (G1 = 33,8 Kg/m², G2 = 31,19 Kg/m²; p<0,05) mostraram-se maiores nos grupos com concentração de c-HDL baixa (G1 e G2) independente da concentração de triglicerídeos. Essa observação pode ser explicada quando analisamos com mais profundidade outros fatores analisados neste estudo, como os tamanhos das partículas de HDL e sua correlação com a concentração de c-HDL e o índice de massa corpórea, que serão vistos posteriormente.

Em um estudo de Kim (2006) no qual fala sobre obesidade e fatores de risco cardiovasculares em criança e adolescentes, mostrou que quanto maior o IMC menor o nível de c-HDL. Tal fato também foi apresentado no presente estudo. Isto já não é mostrado com tanta evidência no estudo de Oliveira (2010), que apresenta somente uma tendência, não significativa, de correlação inversa entre c-HDL e IMC.

Vale ainda ressaltar que, os grupos 1 e 2 apresentaram médias de IMC que se enquadram, segundo a classificação adaptada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e apresentada pela Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO), em obesidade do tipo 1, com risco de comorbidades moderada. Já os pacientes do grupo 3 e 4 se enquadram na classificação de peso normal ou sobrepeso com risco de comorbidades médio (ABESO, 2010).

A medida da circunferência da cintura (CC) mostrou-se maior, significativamente, no grupo 2 (Homens = 102,9 cm, Mulheres = 92,5 cm; p<0,05), em

ambos os gêneros (**Tabela 2**). E, vale destacar, um aumento também da CC em homens do grupo 4.

Esses grupos tiveram valores de CC que se associam a um risco aumentado de complicações metabólicas, segundo a OMS e ABESO (≥ 94 cm para homens e ≥ 80 cm para mulheres).

Estudos afirmam que a medida da circunferência da cintura não é uma medida muito precisa para obesidade abdominal, isso por ser tão fácil sua obtenção, mas mostram correlações entre o aumento da CC, aumento dos níveis de triglicerídeos e diminuição do c-HDL, o que vai de acordo com os resultados visualizados, principalmente, no grupo 2 (ER et al., 2016; ROEVER et al., 2016).

Um estudo recente apresenta de forma mais direta e específica a relação entre a CC e o IMC e os níveis de c-HDL e triglicerídeos, onde o aumento das variáveis CC e IMC se relacionam com a diminuição das concentrações de c-HDL e aumento de triglicerídeos (SARDINHA et al., 2016).

A porcentagem de massa gorda (MG) apresentou-se maior nas mulheres, caso semelhante ao apresentado no estudo de Oliveira (2010) que estudou a relação entre índices antropométricos e fatores de risco cardiovasculares. Entretanto, a MG somente apresentou diferença significativa entre homens dos grupos com concentração de triglicerídeos alta ($G2 = 29,6\%$, $G4 = 29,0\%$, $p < 0,05$), independente da concentração de c-HDL. Isto acontece também no estudo mencionado anteriormente onde a concentração de triglicerídeos e porcentagem de gordura corporal apresentaram correlação direta.

Em relação ao escore total da atividade física habitual que avalia a atividade física ocupacional (AFO), exercício físico no lazer (EFL) e exercício físico no lazer e locomoção (ELL) e que é citada em varios estudos (FLORINDO et al., 2004; FLORINDO; LATORRE, 2003; SARDINHA et al., 2010), percebeu-se que não houve diferença significativa entre os grupos (**Tabela 2**). Devido a isso, pode ser que os fatores como c-HDL baixo e triglicerídeos alto sejam atribuídos não ao sedentarismo, mas sim a falta de outros hábitos de vida saudáveis como, por exemplo, a alimentação.

No estudo de Florindo (2004), que procura validar e reproduzir o questionário de atividade física habitual em homens adultos, foi apresentado uma média de escore total de atividade física habitual semelhantes às apresentadas neste presente estudo, variando de 7 a 7,5.

Assim como indicadores antropométricos são importantes para avaliar a presença de sobrepeso, obesidade e possíveis riscos metabólicos, as análises bioquímicas são importantes para avaliar possíveis disfunções fisiológicas. Juntas ajudam na busca de causas que prejudicam a saúde.

Observando a **Tabela 3**, diferenças significativas são evidenciadas em todos os parâmetros bioquímicos e valores da pressão arterial.

Tabela 3. Caracterização e análise dos parâmetros bioquímicos e da pressão arterial. Fortaleza, 2016.

Variáveis	Grupo 1 (n=37)	Grupo 2 (n=32)	Grupo 3 (n=50)	Grupo 4 (n=11)	p
Glicose (mg/dL)	96±38	130±58*	87±8	96±14	(<0,001) ^b
Colesterol Total (mg/dL)	161±35	206±40	204±38	247±39*	(<0,001) ^a
c-HDL (mg/dL)	37±4	36±5	69±10*	64±6*	(<0,001) ^b
c-LDL (mg/dL)	105±31	105±32	119±37	138±42*	(0,021) ^a
c-VLDL (mg/dL)	20±6	50±10*	17±6	48±9*	(<0,001) ^b
Triglicerídeos (mg/dL)	100±30	347±182*	86±32	243±39*	(<0,001) ^b
PAS	123±15	131±17*	118±13	127±16	(0,005) ^b
PAD	102±11*	88±11	78±11	82±10	(0,004) ^b

As variáveis têm seus valores expressos em média ± desvio padrão; HDL=lipoproteína de alta densidade; LDL=lipoproteína de baixa densidade; VLDL=lipoproteína de muito baixa densidade; PAS=pressão arterial sistólica; PAD=pressão arterial diastólica; grupo 1 (c-HDL < 40 mg/dL e TG < 150 mg/dL); grupo 2 (c-HDL < 40 mg/dL e TG > 200 mg/dL); grupo 3 (c-HDL > 60 mg/dL e TG < 150 mg/dL); grupo 4 (c-HDL > 60 mg/dL e TG > 200 mg/dL); diferença significativa: * (p<0,05); a=teste de ANOVA com pós-teste de Tukey;b=teste de Kruskal-Wallis.

A glicemia mostrou-se maior, significativamente, nos grupos 1, 2 e 4 com destaque para o grupo 2 (130,58 mg/dL; p<0,05). Tal fato pode ser explicado devido às alterações lipídicas presentes nos grupos, exemplificado por níveis elevados de triglicerídeos e/ou baixa concentração de c-HDL, que ocasiona a resistência à insulina a qual se refere à regulação deficiente da insulina sobre utilização dos carboidratos como substrato para energia nos tecidos periféricos.

Esta problemática está bem presente no estudo de Feng (2016) que falou sobre a resistência a insulina na relação entre lipídeos e inflamação em paciente com diabetes tipo 2 e não diabéticos.

Em relação ao perfil lipídico, focando nos níveis de c-HDL e triglicerídeos, observou-se diferença significativa proposital, devido a divisão e caracterização dos

grupos. Mostrando, então, que os grupos foram caracterizados da forma pretendida de acordo com o objetivo do estudo.

A concentração de colesterol total (CT) apresentou-se elevada, principalmente nos grupos 2 e 4 ($G4 = 247 \text{ mg/dL}$; $p < 0,05$) os quais apresentam maior concentração de triglicerídeos e idade mais avançada. O grupo 3 também apresenta elevação de colesterol total em relação ao grupo 1, mas diferente deste, o grupo 3 apresenta uma concentração maior de colesterol-HDL que, baseando-se na fórmula $CT = c\text{-HDL} + c\text{-LDL} + c\text{-VLDL}$, torna maior a concentração de colesterol total.

Observando-se os níveis de colesterol LDL, percebe-se que o grupo 4 (138 mg/dL ; $p < 0,05$) apresenta maiores valores em relação aos outros grupos, mas a maioria dos pacientes ficaram com valores abaixo de 160 mg/dL , o que é recomendado para diminuir o risco cardiovascular (XAVIER, 2013).

Os níveis de colesterol VLDL que se encontraram elevados, significativamente, nos grupos 2 (50 mg/dL) e 4 (48 mg/dL), que têm as maiores concentrações de triglicerídeos. Este fato e os apresentados sobre o perfil lipídico acompanham os resultados apresentados nos estudos de Lee et al. (2016) que procurava validar um método para estimar os níveis de c-LDL, e de Junli et al. (2016) que avalia a prevalência de dislipidemia em residentes de idade entre 18 a 69 anos.

Observando as variáveis de pressão arterial sistólica e diastólica, verificou-se diferença significativa entre os grupos, tendo uma elevação nos grupos 1 e 2 (**Tabela 3**).

Sabe-se que alterações do perfil lipídico podem determinar o desenvolvimento de lesões agudas obstrutivas em várias artérias e um aumento substancial de risco de morte por doenças coronarianas (PEREIRA et al., 2014). Isto explica o porquê do aumento da média das pressões sistólicas e diastólicas nos grupos com alteração nos parâmetros lipídicos (grupos 1, 2 e 4).

Estas alterações também são mostradas nos estudos de Modrzejewska (2015) que pesquisou pacientes com glaucoma, associando alteração no perfil lipídico e fatores de risco cardiovasculares, e de Pereira (2014), que fez associação entre doenças cardiovasculares e hipercolesterolemia familiar, e em ambas mostra-se um aumento nos níveis de pressão arterial associados com diminuição de c-HDL e aumento da taxa de triglicerídeos, sendo mais evidenciado com as alterações nas concentrações de c-HDL.

Muitas vezes é importante associar a qualidade com a quantidade. Dessa forma, em pesquisas sobre dislipidemias e eventos cardiovasculares, a quantificação de níveis

lipídicos está sendo associada com a avaliação da qualidade (tamanho e funcionalidade) das lipoproteínas.

Tabela 4. Caracterização e análise das subfrações da lipoproteína HDL. Fortaleza, 2016.

Variáveis	Grupo 1 (n=37)	Grupo 2 (n=32)	Grupo 3 (n=50)	Grupo 4 (n=11)	p
HDL1 (%)	5,9±4,9	5,4±3,5	10,5±4,8*	6,6±3,6	(0,002)^a
HDL2 (%)	7,8±4,2	5,2±2,7	13,2±5,1*	9,8±4,4	(<0,001)^a
HDL3 (%)	6,2±2,4	4,4±1,9	10,2±2,8*	7,9±3,5	(<0,001)^a
HDL4 (%)	8,4±2,7	7,4±2,2	10,7±2,1*	8,8±2,8	(0,001)^a
HDL5 (%)	9,1±2,8	9,7±2,4	8,5±1,4	8,6±1,2	(0,321) ^a
HDL6 (%)	16,7±4,3	19,5±4,2*	14,8±2,6	17,2±2,8	(0,002)^a
HDL7 (%)	7,4±1,1	8,9±2,4*	6,4±1,4	8,1±3,4*	(0,001)^b
HDL8 (%)	9,8±1,8	10,9±3,1	8,7±2,2	9,7±4,7	(0,141) ^a
HDL9 (%)	8,1±2,1	8,8±2,0	7,0±2,8	8,1±2,3	(0,092) ^a
HDL10 (%)	20,6±12,2*	19,6±8,4*	10,1±7,6	14,4±7,2	(0,002)^a
HDL 1-2/HDL 9-10 (%)	0,74±0,78	0,43±0,27	2,17±1,73*	0,97±0,78	(<0,001)^b
HDL grandes (%)	19,90±10,93	15,00±6,54	32,90±12,93*	24,27±9,53	(<0,001)^a
HDL medias (%)	41,65±8,52	45,50±6,82	40,45±4,71	42,54±5,09	(0,107) ^a
HDL pequenas (%)	38,55±15,00*	39,25±10,26*	25,65±11,51	33,00±10,07	(0,002)^a

As variáveis têm seus valores expressos em média ± desvio padrão; HDL=lipoproteína de alta densidade; grupo 1 (c-HDL < 40 mg/dL e TG < 150 mg/dL); grupo 2 (c-HDL < 40 mg/dL e TG > 200 mg/dL); grupo 3 (c-HDL > 60 mg/dL e TG < 150 mg/dL); grupo 4 (c-HDL > 60 mg/dL e TG > 200 mg/dL); diferença significativa: * (p<0,05); a=teste de ANOVA com pós-teste de Tukey;b=teste de Kruskal-Wallis.

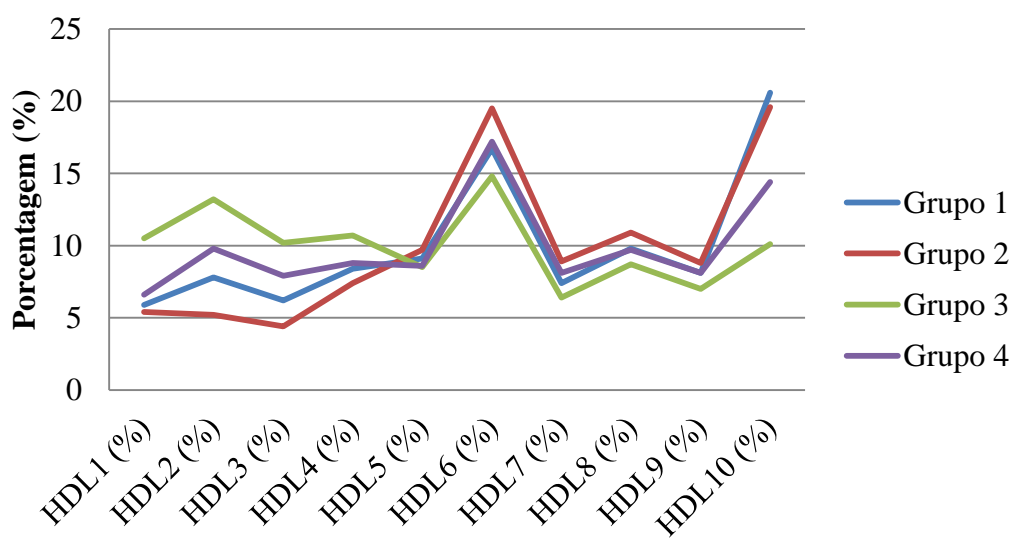
Focando em um dos principais objetivos do estudo, a análise das subfrações da HDL, percebeu-se que há uma maior porcentagem, significativa, de HDLs grandes nos grupos com maior concentração de c-HDL (G1 = 19,90, G2 = 15,00, **G3 = 32,90**, G4 = 24,27; p<0,05), principalmente, no grupo 3 o qual tem níveis desejáveis de triglicérides (**Tabela 4**). Em contrapartida, nota-se o aumento da porcentagem de partículas de HDL pequenas, principalmente, nos grupos 1, 2 (**G1 = 38,55**, **G2 = 39,25**, G3 = 25,65, G4 = 33,00; p<0,05). Tais resultados mostraram que além da diminuição da concentração de c-HDL que já é um dos preditores de risco cardiovascular (SBC, 2013), têm-se a diminuição dos tamanhos das lipoproteínas que, conseqüentemente diminuem sua qualidade, principalmente, no quesito de proteção cardiovascular como o transporte reverso de colesterol. Isso acontece, pois, a partícula de HDL, ao diminuir seu tamanho, perde enzimas importantes como por exemplo, CETP, Lp PLA2, Paraoxonase, que são

importantes para suas variadas funções (DA SILVA; TIMM; DAMASCENO, 2013; LIMA; COUTO, 2006). O contrário aconteceu com os grupos com níveis de c-HDL desejáveis, obtendo HDLs em tamanhos maiores e, conseqüentemente, com melhor funcionalidade. Ressalta-se que o grupo 4 ainda se diferenciou do grupo 3 tanto em relação a diminuição das partículas de HDLs grande como no aumento das partículas de HDL pequenas, podendo ser atribuído na diferenciação da concentração de triglicérides existentes entre esses dois grupos (**Tabela 4**).

Tal situação está sendo citada em outros trabalhos, inclusive no estudo de Mendivil (2016) que fala sobre essa diminuição da quantidade de c-HDL em pacientes com hipertrigliceridemia, sobrepeso ou obesidade, tendo uma distribuição de partículas de HDL menores. Afirmando uma função de transporte reverso de colesterol prejudicado e estabelecimento de alto risco de doenças cardiovasculares nesse fenótipo de pessoas.

O **Gráfico 1** mostra e reforça as diferenças significativas mostradas na **tabela 4**, onde, observando-se as HDLs 1, 2 e 3, assim como as HDLs 8, 9 e 10, percebe-se que os grupos 3 e 4 apresentam tamanho de lipoproteínas HDL maiores em relação aos grupos 1 e 2. Por isso que a razão entre as HDL 1-2 e HDL 9-10 se tornou mais elevada significativamente no grupo 3 ($G1 = 0,74$, $G2 = 0,43$, $G3 = 2,17$, $G4 = 0,97$; $p < 0,05$) (**Tabela 4**).

Gráfico 1. Perfil das subfrações da lipoproteína HDL nos grupos em estudo



Vale ressaltar que alguns pacientes, em exceção, do grupo 3, nos quais espera-se uma maior quantidade de partículas de HDLs grandes, apresentaram uma maior quantidade de HDLs pequenas como mostrada nos gráficos a seguir (**Gráfico 2 e 3**). No Gráfico 2, por exemplo, dois pacientes com concentração de c-HDL de 91 mg/dL (2A) e 94 mg/dL (2B), consideradas desejáveis pela Sociedade Brasileira de Cardiologia, apresentaram perfil de subfrações de HDL bem diferentes. Se atentarmos para a porcentagem de HDLs pequenas, o indivíduo 2A apresenta maior porcentagem de HDLs pequenas (49%) em relação ao indivíduo 2B (19%).

Isso mostra a importância de não somente analisar a quantidade da lipoproteína, mas, sim, sua qualidade. E, ainda, em pacientes com concentrações de c-HDL dita como protetores cardiovasculares existe uma possibilidade de ter eventos cardiovasculares semelhantes àqueles pacientes com níveis reduzido de c-HDL (**Gráfico 3**). Neste gráfico, um indivíduo com concentração de c-HDL de 70 mg/dL (3A) tem porcentagem de HDLs pequenas (38%), por exemplo, semelhante a porcentagem de HDLs pequenas (40%) do indivíduo com concentração de c-HDL de 38 mg/dL (3B).

Gráfico 2. Comparação do perfil das subfrações de HDL de indivíduos com níveis de c-HDL desejáveis utilizando-se o sistema Quantimetrix LIPOPRINT®.

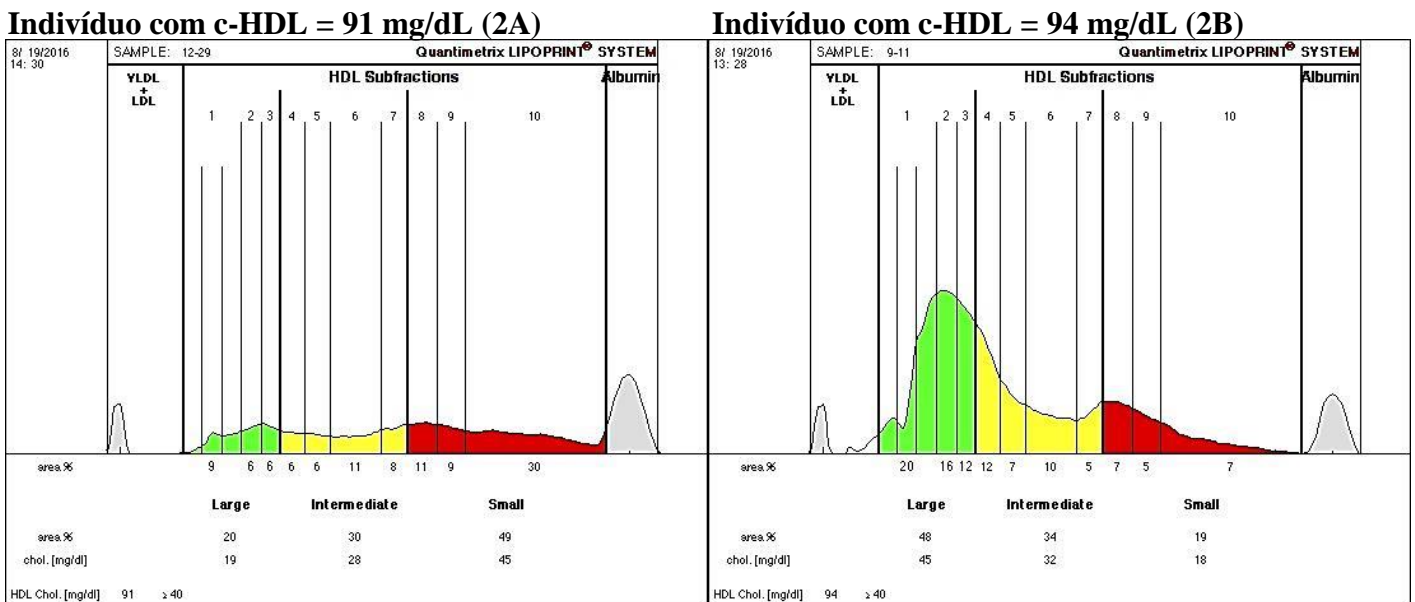
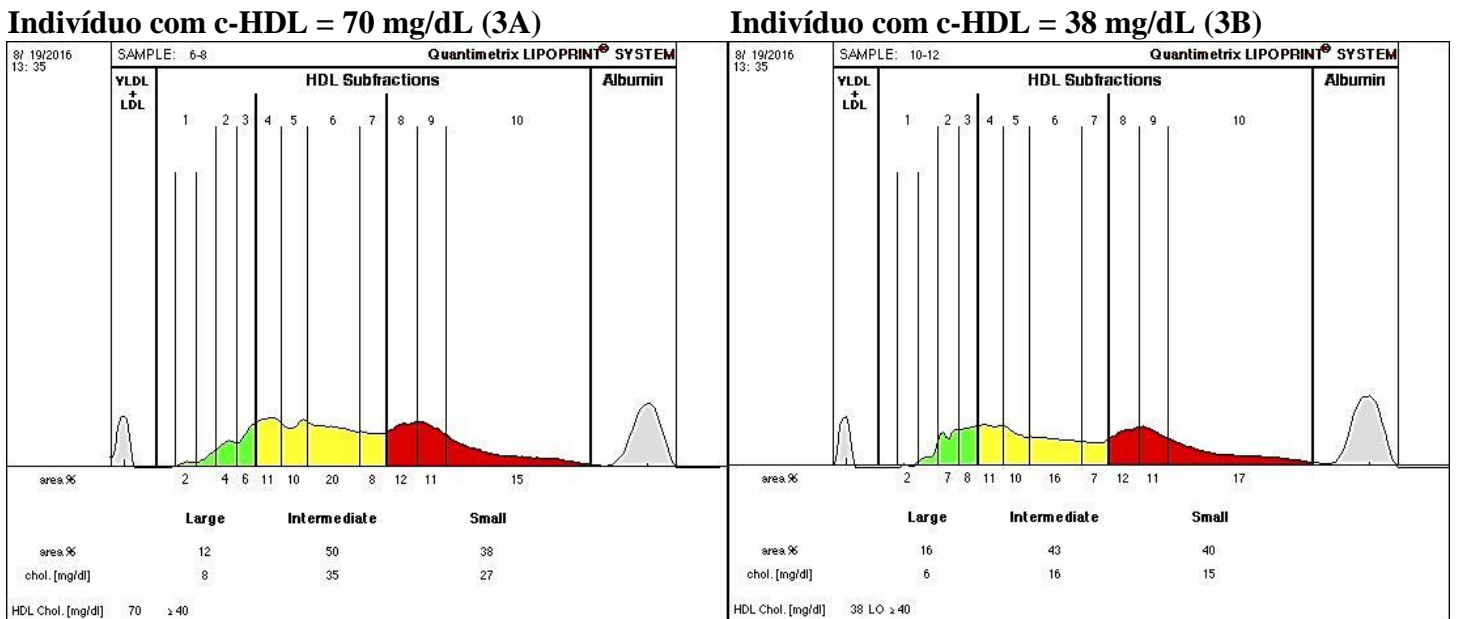


Grafico 3. Comparação do perfil das subfrações de HDL de indivíduos com níveis de c-HDL baixo e desejável utilizando-se o sistema Quantimetrix LIPOPRINT®



Acrescido a todas as análises apresentadas, tem-se a avaliação da capacidade antioxidante da HDL (*Lag Time HDL*) (**Tabela 5**). Essa análise mostrou uma diminuição na função antioxidante da HDL nos grupos com concentração de triglicerídeos > 200 mg/dL ($G2 = 77$ min e $G4 = 72$ min) independente da concentração de c-HDL. Apresentando uma melhor funcionalidade antioxidante da HDL no grupo 3 (86 min) o qual apresenta desejáveis concentrações do perfil glicolipídico.

Tabela 5. Caracterização e análise da capacidade antioxidante da lipoproteína HDL (*Lag Time HDL*). Fortaleza, 2016.

Variável	Grupo 1 (n=37)	Grupo 2 (n=32)	Grupo 3 (n=50)	Grupo 4 (n=11)	p
Lag Time HDL (min)	80±14	77±18	86±16*	72±8	(0,001)b

A variável tem seu valor expresso em média ± desvio padrão; HDL=lipoproteína de alta densidade; grupo 1 (c-HDL < 40 mg/dL e TG < 150 mg/dL); grupo 2 (c-HDL < 40 mg/dL e TG > 200 mg/dL); grupo 3 (c-HDL > 60 mg/dL e TG < 150 mg/dL); grupo 4 (c-HDL > 60 mg/dL e TG > 200 mg/dL); diferença significativa: * (p<0,05);b=teste de Kruskal-Wallis.

Surpreendentemente, os grupos com concentração alta de c-HDL ($G3 = 86$ min e $G4 = 72$ min) diferiram o lag time, mostrando que um estado de hipertrigliceridemia ($G4$) pode ser um fator relevante para a diminuição da funcionalidade antioxidante da HDL.

Ao diminuir a capacidade antioxidante da HDL, a LDL se torna mais vulnerável a sofrer oxidação o que ajuda no início de eventos ateroscleróticos. Em um estudo, por exemplo, foi feita uma comparação da capacidade antioxidante da HDL em pacientes com doença arterial coronariana (DAC) e pacientes controle, demonstrando uma diminuição da proteção antioxidante nos indivíduos com DAC (JUNIOR, 2015).

Em outro estudo, foi mostrado o poder antioxidante da HDL em várias metodologias. Essa abordagem demonstrou que as pequenas e densas partículas de HDL exercem uma potente proteção da LDL contra o stress oxidativo em indivíduos normolipídemicos (KONTUSH, 2003). Neste estudo, o grupo com maior quantidade de partículas de HDL menores (G2) apresentou uma das menores capacidades antioxidantes da HDL, mas os indivíduos não eram normolipidêmicos.

Para aprofundar no estado do tamanho e capacidade antioxidante da HDL em indivíduos com normo ou hipoalfalipoproteinemia, na **tabela 6** são mostradas correlações, através do cálculo do coeficiente linear de Pearson, para saber se há alguma correlação direta ou inversa e quanto forte é essa relação entre as subclasses e lag time da HDL com outras variáveis.

As variáveis idade, IMC e CC apresentaram correlações inversas com subclasses grandes de HDL, confirmando que o aumento de tais variáveis são indicadoras da diminuição de funções protetoras dessa lipoproteína. Tais correlações mostram o quanto o aumento da CC e IMC podem indicar riscos metabólicos em pacientes conforme os estudos de obesidade da ABESO (Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica).

A porcentagem de massa gorda, glicemia e colesterol total foram variáveis que não apresentaram correlações com o tamanho e a capacidade antioxidante da HDL.

As pressões arteriais sistólica e diastólica assim como a concentração de c-LDL demonstraram correlação inversa com a razão HDLs grandes/HDLs menores, afirmando um poder maior de proteção cardiovascular em indivíduos com perfil de HDLs com frações maiores.

Tabela 6. Correlação entre o tamanho e a capacidade antioxidante da HDL (Lag time HDL) com a variáveis idade, IMC, CC, MG, PAS, PAD, Glicose, CT, c-HDL, c-LDL e triglicerídeos. Fortaleza, 2016.

Variáveis	Idade	IMC	CC	MG	PAS	PAD	Glicose	CT	c-HDL	c-LDL	Triglicerídeos
	r (p)	r (p)	r (p)	r (p)	r (p)	r (p)	r (p)	r (p)	r (p)	r (p)	r (p)
HDL grandes (%)	-0,320^{##} (0,006)*	-0,444^{###} (<0,001)*	-0,281^{##} (0,017)*	-0,054 (0,647)	-0,133 (0,265)	-0,184 (0,122)	-0,011 (0,924)	-0,140 (0,246)	0,587^{###} (<0,001)*	-0,235 (0,059)	-0,415^{###} (<0,001)*
HDL medias (%)	0,026 (0,828)	0,215 (0,072)	0,250^{##} (0,034)*	0,100 (0,401)	0,436^{###} (<0,001)*	0,280^{##} (0,017)*	0,057 (0,640)	-0,092 (0,448)	-0,261^{##} (0,028)*	-0,153 (0,223)	0,064 (0,597)
HDL pequenas (%)	0,375^{##} (0,001)*	0,321^{##} (0,006)*	0,384^{##} (0,001)*	0,204 (0,083)	0,246^{##} (0,037)*	0,113 (0,344)	-0,003 (0,979)	0,158 (0,188)	-0,426^{###} (<0,001)*	0,280^{##} (0,024)*	0,358^{##} (0,002)*
HDL 1-2 (%)/HDL 9-10 (%)	-0,372^{##} (0,001)*	-0,406^{##} (<0,001)*	-0,368^{##} (0,002)*	-0,220 (0,066)	-0,331^{##} (0,005)*	-0,255^{##} (0,033)*	-0,061 (0,612)	-0,199 (0,097)	0,548^{###} (<0,001)*	-0,323^{##} (0,009)*	-0,347^{##} (0,003)*
Lag Time HDL (min)	-0,067 (0,455)	-0,085 (0,344)	-0,101 (0,261)	0,036 (0,689)	-0,251^{##} (0,005)*	-0,081 (0,367)	-0,120 (0,179)	-0,131 (0,142)	0,109 (0,222)	-0,096 (0,301)	-0,180[#] (0,043)*

r=coeficiente linear de Pearson; IMC=índice de massa corpórea; CC=circunferência da cintura; MG=massa gorda; PAS=pressão arterial sistêmica; PAD=pressão arterial diastólica; CT=colesterol total; LDL=lipoproteína de baixa densidade; HDL=lipoproteína de alta densidade; *=diferença significativa (p<0,05); #=correlação muito baixa; ##=correlação baixa; ###=correlação moderada.

A concentração de c-HDL mostrou-se a variável com correlação mais forte com a porcentagem das subclasses das HDLs ($r=0,548$; $p<0,001$) (**Tabela 6**). O aumento da concentração de c-HDL, independente da concentração de triglicérides, teve uma relação diretamente proporcional com o aumento de partículas maiores de HDL. Mas não observou-se correlação com a capacidade antioxidante da HDL.

O contrário aconteceu com a concentração de triglicérides, mostrando-se ser uma variável, independente da concentração de c-HDL, com correlação inversa à porcentagem de frações maiores de HDL. Além disso, seu aumento diminuiu a capacidade antioxidante da mesma lipoproteína ($r=0,180/p=0,043$). Este último fato acompanhou a relação entre a PAS com o lag time da HDL. Mostrando que, tanto a diminuição da concentração de c-HDL como o aumento de triglicérides são fatores que causam uma redução na população de lipoproteínas de alta densidade com maiores tamanhos e com melhores funcionalidades, como o transporte reverso colesterol, diminuindo a proteção cardiovascular.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que:

- O aumento da idade, IMC e CC contribuem para a diminuição da presença de partículas de HDLs grandes;
- Um estado de hipertrigliceridemia diminui o tamanho e a capacidade antioxidante da HDL;
- Em indivíduos que apresentam concentrações baixas de c-HDL (hipoalfalipoproteinemia) há uma diminuição na porcentagem de HDLs com tamanhos maiores sem alteração significativa na capacidade antioxidante na mesma lipoproteína;
- A qualidade da HDL foi influenciada negativamente pela idade avançada, altos valores de IMC e CC, hipertrigliceridemia e hipoalfalipoproteinemia.

7. REFERÊNCIAS

BAECKE, J. A. H.; BUREMA, J.; FRIJTERS, J. E. R. A short questionnaire for the measurement of habitual physical activity in epidemiological studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 36, n. 5, p. 936–942, 1982.

BARBATO, P. R. et al. Perdas dentárias e fatores sociais, demográficos e de serviços associados em adultos brasileiros: uma análise dos dados do Estudo Epidemiológico Nacional (Projeto SP Brasil 2002-2003). *Caderno de Saúde Pública*. Rio de Janeiro. v. 23, n. 8, p. 1803-1814, 2007

BARTER, P. J. et al. Antiinflammatory properties of HDL. *Circulation Research*, v. 95, p. 764–772, 2004.

BERTOLINI, S. et al. Molecular-genetics of the hypoalphalipoproteinemias in Italy. *Internatinal Congress Series*. Italy. v. 1253, p. 85-92, 2003.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, p. 248 - 254, 1976.

BRITES, F. D. et al. Alterations in the main steps of reverse cholesterol transport in male patients with primary hypertriglyceridemia and low HDL-cholesterol levels. *Atherosclerosis*, v. 152, p. 181–192, 2000.

BRUNZELL, J. D.; FAILOR, R. A. Diagnosis and treatment of dyslipidemia. *ACP Medicine*. p. 1-23, 2010.

CALABRESI, L.; GOMARASCHI, M.; FRANCESCHINI, G. Endothelial protection by high-density lipoproteins: From bench to bedside. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, v. 23, p. 1724–1731, 2003.

DA SILVA, I. T.; TIMM, A. D. S.; DAMASCENO, N. R. T. Influence of obesity and cardiometabolic makers on lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) activity in adolescents: the healthy young cross-sectional study. *Lipids in health and disease*, v. 12, p. 19, 2013.

ECKARDSTEIN, A VON; NOFER, J.-R.; ASSMANN, G. High density lipoproteins and arteriosclerosis role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Arteriosclerosis*, v. 21, p. 13–27, 2001.

ER, L. K. et al. Triglyceride glucose-body mass index is a simple and clinically useful surrogate marker for insulin resistance in nondiabetic individuals. *PLoS ONE*, v. 11, n. 3, p. 1–12, 2016.

FENG, Y. M. et al. Insulin resistance in relation to lipids and inflammation in type-2 diabetic patients and non-diabetic people. *PLoS ONE*, v. 11, n. 4, p. 1–12, 2016.

FERREIRA, S. R. G. et al. Frequência de hipertensão arterial e fatores associados: Brasil, 2006. *Revista de Saúde Pública*, 2009.

FLEISHER, L. N. et al. Stimulation of arterial endothelial cell prostacyclin synthesis by high density lipoproteins. *The Journal of biological chemistry*, v. 257, p. 6653–6655, 1982.

FLORINDO, A. et al. Metodologia para a avaliação da atividade física habitual em homens com 50 anos ou mais Methodology to evaluation the habitual physical activity in men aged 50 years or more. *Revista Saúde Pública*, v. 38, n. 2, p. 307–2314, 2004.

FLORINDO, A. A.; LATORRE, M. R. D. O. Validação e reprodutibilidade do questionário de Baecke de avaliação da atividade física habitual em homens adultos. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v. 9, n. 11, p. 129–135, 2003.

FOLSOM, A. R. et al. Physical activity and incidence of coronary heart disease in middle-aged women and men. *Med Sci Sports Exerc.*, v. 29, n. 0195–9131, p. 901–909, 1997.

FORTI, N.; DIAMENT, J. Lipoproteínas de alta densidade: Aspectos metabólicos, clínicos, epidemiológicos e de intervenção terapêutica. Atualização para os clínicos. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*. São Paulo. v. 87, p. 672-679, 2006

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, v. 18, n. 6, p. 499–502, 1972.

JÚNIOR, A. C. A. L. *Avaliação de aspectos funcionais da lipoproteína de alta densidade (HDL) e suas subfrações em pacientes com doença arterial coronária*. 2015. 57 f. Tese (Doutorado em Farmácia) – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2015.

JUNLI, T. et al. Prevalence of dyslipidemia among residents aged 18-69 years in Shandong province of China, 2011. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*, v. 50, n. 3, p. 230–234, 2016.

KIM, H. M. et al. Obesity and cardiovascular risk factors in Korean children and adolescents aged 10-18 years from the Korean National Health and Nutrition Examination Survey, 1998 and 2001. *American journal of epidemiology*, v. 164, n. 8, p. 787–793, 2006.

KONTUSH A. High-density lipoproteins: structure, metabolism, function and therapeutics. *John Wiley & Sons. Inc*, Hoboken, New Jersey. 2011.

KONTUSH, A.; CHANTEPIE, S.; CHAPMAN, M. J. Small, dense HDL particles exert potent protection of atherogenic LDL against oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Paris, France. v. 23, p. 1881-1888, 2003.

LEE, J.; JANG, S.; SON, H. Validation of the martin method for estimating low-density lipoprotein cholesterol levels in Korean adults: Findings from the Korea national health and nutrition examination survey, 2009-2011. *PLoS ONE*, v. 11, n. 1, p. 1–14, 2016.

LIMA, E. S.; COUTO, R. D. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 42, p. 169–178, 2006.

LOWENSTEIN, C. J.; CAMERON, S. J. High-density lipoprotein metabolism and endothelial function. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity*, v. 17, p. 166–170, 2010a.

LOWENSTEIN, C. J.; CAMERON, S. J. High-density lipoprotein metabolism and endothelial function. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, v. 17, n. 2, p. 166–170, 2010b.

MASSEY, J. B. et al. Mass spectrometric determination of apolipoprotein molecular stoichiometry in reconstituted high density lipoprotein particles. *J Lipid Res*. v. 50, n. 6, p. 1229-1236, 2009.

MENDIVIL, C. O. et al. Novel Pathways of Apolipoprotein A-I Metabolism in High-Density Lipoprotein of Different Sizes in Humans. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, v. 36, n. 1, p. 156–165, 2016.

MICHAEL MILLER, PATRICIA LANGENBERG, S. H. NIH Public Access. *Changes*, v. 29, n. 2, p. 997–1003, 2012.

MODRZEJEWSKA, M. et al. The role of lipid dysregulation and vascular risk factors in glaucomatous retrobulbar circulation. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, v. 15, n. 2, p. 50–56, 2015.

MOTTA, V. T. Bioquímica clínica para o laboratório: princípios e interpretações. 5ª Edição. Rio de Janeiro. MedBook, 2009. 400p.

NATARAJAN, P.; RAY, K. K.; CANNON, C. P. High-Density Lipoprotein and Coronary Heart Disease. Current and Future Therapies. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 55, n. 13, p. 1283–1299, 2010.

OLIVEIRA, M. A. M. DE et al. Relação de Indicadores Antropométricos com Fatores de Risco para Doença Cardiovascular. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 94, p. 478–485, 2010.

PANZOLDO, N. B. *Características fenotípicas e funcionais da lipoproteína de alta densidade (HDL) na hipoalfalipoproteinemia e na aterosclerose subclínica*. 2014. 122f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Universidade de Campinas. Campinas, 2014.

PATEL, S. et al. Acute hypertriglyceridaemia in humans increases the triglyceride content and decreases the anti-inflammatory capacity of high density lipoproteins. *Atherosclerosis*, v. 204, p. 424–428, 2009.

PEREIRA, C. et al. Association of peripheral arterial and cardiovascular diseases in familial hypercholesterolemia. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, n. 2, p. 118–123, 2014.

PEREIRA, M. A et al. Physical activity and incident hypertension in black and white adults: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Preventive medicine*, v. 28, p. 304–312, 1999.

ROEVER, L. S. et al. Abdominal Obesity and Association With Atherosclerosis. v. 95, n. 11, p. 1–6, 2016.

SÄEMANN, M. D. et al. The versatility of HDL: A crucial anti-inflammatory regulator. *European Journal of Clinical Investigation*, v. 40, p. 1131–1143, 2010.

SARDINHA, A. et al. Tradução e adaptação transcultural do Questionário de Atividade Física Habitual. *Revista de Psiquiatria Clínica*, v. 37, n. 1, p. 26–39, 2010.

SARDINHA, L. B. et al. A comparison between BMI, waist circumference, and waist-to-height ratio for identifying cardio-metabolic risk in children and adolescents. *PLoS ONE*, v. 11, n. 2, 2016.

SCHRAIBER, L. B. et al. Necessidades de saúde e masculinidades: atenção primária no cuidado aos homens. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 26, n. 5, p. 961–970, 2010.

SEGREST, J. P. et al. Structure and function of apolipoprotein A-I and high-density lipoprotein. *Current opinion in lipidology*, v. 11, p. 105–115, 2000.

STEIN, O.; STEIN, Y. Atheroprotective mechanisms of HDL. *Atherosclerosis*, 1999.

TERESHINA, E. V; IVANENKO, S. I. Age-related obesity is a heritage of the evolutionary past. *Biochemistry (Mosc.)*, v. 79, n. 1608–3040 (Electronic), p. 581–592, 2014.

TIETZ, N. W. et al. Fundamentos de química clínica. 6ª edição. Rio de Janeiro. Elsevier Editora Ltda, 2008. 959 p.

UNOKI, H.; JIANGLIN, F.; WATANABE, T. Low-density lipoproteins modulate endothelial cells to secrete endothelin-1 in a polarized pattern: A study using a culture model system simulating arterial intima. *Cell and Tissue Research*, v. 295, p. 89–99, 1999.

WANG, M.; BRIGGS, M. R. HDL: the metabolism, function, and therapeutic importance. *Chem Rev*, v. 104, n. 1, p. 119-37, 2004.

WARNICK, G. R.; NAUCK, M.; RIFAI, N. Evolution of methods for measurement of HDL-cholesterol: From ultracentrifugation to homogeneous assays. *Clinical Chemistry*, v. 47, p. 1579–1596, 2001.

VAISAR, T., et al. Shotgun proteomics implicates protease inhibition and complement activation in the antiinflammatory properties of HDL. *J Clin Invest*. v. 117, n. 3, p. 746-756, 2007.

XAVIER, H. T. et al. V diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, v. 101, p. 1–20, 2013.

YUHANNA, I. S. et al. High-density lipoprotein binding to scavenger receptor-BI activates endothelial nitric oxide synthase. *Nature medicine*, v. 7, p. 853–857, 2001.

ZHANG, W. et al. Characterization of phospholipids in pre-alpha HDL: selective phospholipid efflux with apolipoprotein A-I. *Journal of lipid research*, v. 39, p. 1601–1607, 1998.

ZIOUZENKOVA, O. et al. Copper can promote oxidation of LDL by markedly different mechanisms. *Free Radical Biology & Medicine*. USA. v. 24, n. 4, p. 607-623, 1998.

8. ANEXOS

Anexo 1

Formulário de Identificação e Avaliação Socioeconômica,
Cultural e de Saúde do Paciente

A0 Data: / /		REG:
A1 Nome:		A2Data de Nasc.: / /
Endereço:		
Bairro:		CEP:
Cidade:		Telefone Res:
TelefoneRecado:		TelefoneCelular:
A3 Sexo: 1()M 2()F	A4 Idade:	
A5 Raça: 1() Branco 2() Negro 3() Pardo 4() Amarelo 5() Indígena		
A6 Estado Civil: 1() Solteiro 2() Casado 3() Viúvo 4() Divorciado 5() Outros		
A7 Trabalha atualmente: 1() SIM 2() NÃO 3() Aposentado 4() Outros: _____		
A8 Profissão: _____		
A9 Escolaridade: 1() Analfabeto 5() EnsinoMédioCompleto 2() Ensino Fundamental Incompleto 6() Ensino Superior Incompleto 3() Ensino Fundamental Completo 7() Ensino Superior Completo 4() EnsinoMédioIncompleto 9() Outros: _____		
A10 Quantas pessoas moram na sua casa? _____		A11 Quantascrianças? _____
A12 Renda_média mensal: 1() Menos_que 1 SM 3() Entre 6 e 10 SM 2() Ente 1 e 5 SM 4() Mais_que 10 SM		
A13 Fumante: 1() SIM 2() NÃO 3() Ex-fumante		
A14 Consomebebidaalcoólica: 1() SIM 2() NÃO		
A15 Tipos de bebidas mais consumidas: 1() Cerveja 3() Cachaça 5() Vinhotinto 2() Vinhobranco 4() Outras: _____		
A16 Quantidade consumida da principal bebida por semana? _____		
A17 Consumo de outros tipos de drogas: 1() SIM 2() NÃO		
A18 Qual (is): _____		
A19 Possui alguma doença? 1() SIM 2() NÃO		
A20 Qualdoença: 1() Diabetes Mellitus 6() Insuficiência Renal Crônica 2() Hipertensão Arterial 7() Cálculo Biliar 3() Hipotireoidismo 8() Doença Auto-Imune 4() DoençaHepática 9() DoençaCoronariana 5() Outras Qual (is)? _____		
A21 Qual fator de risco: 1() HAS (140/90 mmHg ou uso de anti-hipertensivo)		

Anexo 2

Questionário de Atividade Física Habitual

Nome: _____ REG: _____

Data: ___/___/___

Nos últimos doze meses:					
ATIVIDADE FÍSICA OCUPACIONAL					
1. Qual tem sido sua principal ocupação? _____	1		3		5
2. No trabalho o Sr(a) senta: nunca / raramente / algumas vezes / frequentemente / sempre	1	2	3	4	5
3. No trabalho o Sr(a) fica em pé: nunca / raramente / algumas vezes / frequentemente / sempre	1	2	3	4	5
4. No trabalho o Sr(a) anda: nunca / raramente / algumas vezes / frequentemente / sempre	1	2	3	4	5
5. No trabalho o Sr(a) carrega carga pesada: nunca / raramente / algumas vezes / frequentemente / sempre	1	2	3	4	5
6. Após o trabalho o Sr(a) carrega carga pesada: muito frequentemente / freqüent. / algumas vezes / raramente / nunca	5	4	3	2	1
7. No trabalho o Sr(a) sua: muito frequentemente / frequent. / algumas vezes / raramente / nunca	5	4	3	2	1
8. Em comparação com outros da sua idade, o Sr(a) pensa que seu trabalho é fisicamente: muito mais pesado / mais pesado / tão pesado quanto / mais leve / muito mais leve	5	4	3	2	1
					Score de AFO
EXERCÍCIO FÍSICO NO LAZER					
9. O Sr(a) pratica ou praticou esporte ou exercício físico nos últimos 12 meses: Sim / Não	1		3		5
9.1 Qual esporte ou exercício você pratica ou praticou mais frequentemente? _____	1	2	3	4	5
9.2 Quantas horas por semana? <1 1-2 2-3 3-4 >4	1	2	3	4	5
9.3 Quantos meses por ano? <1 1-3 4-6 7-9 >9	1		3		5
9.4 Se você faz ou fez um segundo esporte ou exercício físico, qual o tipo? _____	1	2	3	4	5
9.5 Quantas horas por semana? <1 1< 2 2<3 3-4 >4	1	2	3	4	5
9.6 Quantos meses por ano? <1 1-3 4-6 7-9 >9	1	2	3	4	5
9.7 Resultado Final da Questão 9	1	2	3	4	5
10. Em comparação com outros da sua idade o Sr(a) pensa que sua atividade física durante as horas de lazer é: muito maior / maior / a mesma / menor / muito menor	5	4	3	2	1
11. Durante as horas de lazer o Sr(a) sua: muito frequentemente / frequentemente / algumas vezes / raramente / nunca	5	4	3	2	1
12. Durante as horas de lazer o Sr(a) pratica esporte ou exercício físico: nunca / raramente / algumas vezes / frequentemente / muito frequentemente	1	2	3	4	5
					Score de AFO

ATIVIDADE FÍSICA DE LAZER E LOCOMOÇÃO					
13. Durante as horas de lazer o Sr(a) vê televisão: nunca / raramente / algumas vezes / frequentemente / muito frequentemente	1	2	3	4	5
14. Durante as horas de lazer o Sr(a) anda: nunca / raramente / algumas vezes / frequentemente / muito frequentemente	1	2	3	4	5
15. Durante as horas de lazer o Sr(a) anda de bicicleta: nunca / raramente / algumas vezes / frequentemente / muito frequentemente	1	2	3	4	5
16. Durante quantos minutos por dia o Sr(a) anda a pé ou de bicicleta indo e voltando do trabalho, escola ou compras? <5 / 5-15 / 16-30 / 31-45 / >45	1	2	3	4	5
	Escore de AFO				
	17. Somatória Total dos Pontos				
	18. ESCORE TOTAL				

Fórmula para cálculo dos escores do questionário Baecke de Atividade Física Habitual (AFH)

O Escore Total de Atividade Física será calculado como o preconizado pelo estudo de Baecke, 1982¹.

Atividade Física Ocupacional (AFO)

Cálculo da primeira questão referente ao tipo de ocupação: Intensidade (tipo de ocupação) = 1 para profissões com gasto energético leve, 3 para profissões com gasto energético moderado ou 5 para profissões com gasto energético vigoroso (determinada pela resposta do tipo de ocupação, o gasto energético da profissão deve ser conferido no compêndio de atividades físicas de Ainsworth, 2000).

$$\text{Escore de AFO} = \frac{Q1 + (6 - Q2) + Q3 + Q4 + Q5 + Q6 + Q7 + Q8}{8}$$

8

Exercício Físico no Lazer (EFL)

Cálculo da questão 9 referente à prática de esporte/exercício físicos:

- Intensidade (tipo de modalidade) = 0,76 para modalidades com gasto energético leve, 1,26 para modalidades com gasto energético moderado ou 1,76 para modalidades com

gasto energético vigoroso (determinado pela resposta do tipo de modalidade, deve ser conferido no compêndio de atividades físicas de Ainsworth, 2000).

- Tempo (hora por semana) = 0,5 para menos de uma hora por semana, 1,5 entre maior que uma hora e menor que duas horas por semana, 2,5 para maior que duas horas e menor que três horas por semana, 3,5 para maior que três e até quatro horas por semana ou 4,5 para maior que quatro horas por semana (determinado pela resposta das horas por semana de prática).

- Proporção (meses por ano) = 0,04 para menor que um mês, 0,17 entre um a três meses, 0,42 entre quatro a seis meses, 0,67 entre sete e nove meses ou 0,92 para maior que nove meses (determinado pela resposta dos meses por ano de prática).

Para cálculo desta questão, os valores devem ser multiplicados e somados:

Mod. 1 (intensidade x tempo x proporção) + Mod. 2 (intensidade x tempo x proporção)

Após o resultado deste cálculo, para o valor final, deverá ser estipulado um escore de 1 a 5 de acordo com critérios especificados abaixo:

0 (sem exercício físico) = 1 / entre 0,01 até < 4=2 / entre 4 até < 8=3 / entre 8 até < 12=4 / $\geq 12,00 = 5$

O escore final de EFL deverá ser obtido de acordo com a fórmula abaixo:

$$\text{Escore de EFL} = \frac{Q9 + Q10 + Q11 + Q12}{4}$$

Atividade Física de Lazer e Locomoção (ALL)

O escore final de ALL deverá ser obtido de acordo com a fórmula abaixo:

$$\text{Escore de ALL} = \frac{(6 - Q13) + Q14 + Q15 + Q16}{4}$$

$$\text{Escore total de atividade física (ET)} = \text{AFO} + \text{EFL} + \text{ALL}$$

¹FLORINDO AA, LATORRE MRDO. Validação e Reprodutibilidade do Questionário de Baecke de avaliação da atividade física habitual em homens adultos. *Rev Bras Med Esporte* 2003; 9:121-8.

Anexo 3**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

TÍTULO DA PESQUISA: “Influência do índice ômega-3 no tamanho e funcionalidade da HDL de indivíduos com hipoalfalipoproteinemia”

PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL: Richard Rarison Cavalcante Meneses

Prezado(a) Colaborador(a),

Você está sendo convidado(a) a participar desta pesquisa que irá analisar o índice ômega-3, tamanho da HDL e sua funcionalidade, perfil lipídico e glicêmico de indivíduos com hipoalfalipoproteinemia secundária, que foram atendidos no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas (LACT).

1.PARTICIPAÇÃO NA PESQUISA: Ao participar desta pesquisa você irá realizar algumas avaliações (socioeconômica e clínica, alimentar e atividade física habitual) alguns exames laboratoriais, por meio da coleta de sangue, para a pesquisa de alterações no funcionamento do metabolismo lipídico, especificamente a lipoproteína HDL. A coleta de sangue e será realizada pelos funcionários do laboratório (LACT) no qual você foi atendido, da mesma maneira em que são realizados seus exames de rotina.

Lembramos que a sua participação é voluntária, você tem a liberdade de não querer participar, e pode desistir, em qualquer momento, mesmo após ter iniciado o(a) os(as) (ENTREVISTA, AVALIAÇÕES, EXAMES ETC.) sem nenhum prejuízo para você.

2.RISCOS E DESCONFORTOS: Os procedimentos utilizados (coleta de sangue) para exame poderão trazer algum desconforto como dor no local da entrada da agulha para a coleta de sangue e sangramento na hora da coleta de sangue. O tipo de procedimento apresenta um risco mínimo, que será reduzido pelo funcionário do hospital que irá realizar a coleta, uma vez que o mesmo deverá ser um profissional experiente na área e irá minimizar ao máximo o risco destas complicações.

3.BENEFÍCIOS: Os benefícios esperados com o estudo são no sentido de detectar alguma disfunção nas lipoproteínas HDL e dislipidemia, o que proporcionará um tratamento adequado para estes problemas. Sendo os resultados obtidos entregues aos pacientes após término do estudo.

4.CONFIDENCIALIDADE: Todas as informações que o(a) Sr.(a) nos fornecer ou que sejam conseguidas por exames serão utilizadas somente para esta pesquisa. Seus dados ficarão em segredo e o seu nome não aparecerá em lugar nenhum das fichas de avaliação nem quando os resultados forem apresentados.

5.ESCLARECIMENTOS: Se tiver alguma dúvida a respeito da pesquisa e/ou dos métodos utilizados na mesma, pode procurar a qualquer momento o pesquisador responsável.

Nome do pesquisador responsável: Richard Rarison Cavalcante Meneses

Endereço: Rua Capitão Francisco Pedro 1210
Telefone para contato: (85) 8865-1499, (85) 97376476

Coordenadora do estudo: Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz
Telefone para contato: (85) 9943-3712, 3366-8269
Horário de atendimento: horário comercial.

Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal do Ceará
Endereço: Rua Coronel Nunes de Melo, 1000
Telefone para contato: 3366-8344

6.RESSARCIMENTO DAS DESPESAS: Caso o(a) Sr.(a) aceite participar da pesquisa, não receberá nenhuma compensação financeira.

7.CONCORDÂNCIA NA PARTICIPAÇÃO: Se o(a) Sr.(a) estiver de acordo em participar deverá preencher e assinar o Termo de Consentimento Pós-esclarecido que se segue, e receberá uma cópia deste Termo.

O **sujeito de pesquisa** ou seu representante legal, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

O **pesquisador responsável** deverá, da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

CONSENTIMENTO PÓS INFORMADO

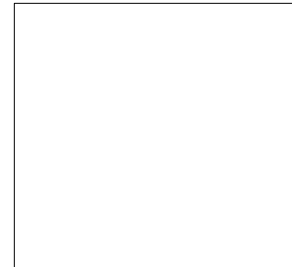
Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr.(a) _____, portador(a) da cédula de identidade _____, declara que, após leitura minuciosa do TCLE, teve oportunidade de fazer perguntas, esclarecer dúvidas que foram devidamente explicadas pelos pesquisadores, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido e, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO em participar voluntariamente desta pesquisa.

E, por estar de acordo, assina o presente termo.

Fortaleza-Ce., _____ de _____ de _____.

Assinatura do participante

Ou Representante legal



Impressão dactiloscópica

Assinatura do Pesquisador


Anexo 4

Comprovante de aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa

- DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INFLUÊNCIA DO ÍNDICE W-3 NO TAMANHO E FUNCIONALIDADE DA HDL DE INDIVÍDUOS COM HIPOALFALIPOPROTEINEMIA
Pesquisador Responsável: Richard Rarison Cavalcante Meneses
Área Temática:
Versão: 2
CAAE: 44550015.0.0000.5054
Submetido em: 27/05/2015
Instituição Proponente: Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas
Situação da Versão do Projeto: Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio



Comprovante de Recepção:  PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_484069