



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

**RICHARD RARISON CAVALCANTE MENESES**

**ENVOLVIMENTO DO POLIMORFISMO DA APOLIPOPROTEINA A1 (rs670) NO  
TAMANHO E AÇÃO ANTIOXIDANTE DA LIPOPROTEÍNA DE ALTA  
DENSIDADE**

**FORTALEZA**

**2023**

RICHARD RARISON CAVALCANTE MENESES

ENVOLVIMENTO DO POLIMORFISMO DA APOLIPOPROTEINA A1 (rs670) NO  
TAMANHO E AÇÃO ANTIOXIDANTE DA LIPOPROTEÍNA DE ALTA DENSIDADE

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para o exame de defesa de Doutorado.

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup> Maria Goretti Rodrigues de Queiroz.

Co-orientador: Prof<sup>º</sup>. Dr. Tiago Lima Sampaio.

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- M488e Meneses, Richard Rarison Cavalcante.  
Envolvimento do polimorfismo da apolipoproteína A1 (rs670) no tamanho e ação antioxidante da lipoproteína de alta densidade / Richard Rarison Cavalcante Meneses. – 2023.  
83 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Fortaleza, 2023.  
Orientação: Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz.  
Coorientação: Profa. Dra. Tiago Lima Sampaio.
1. Lipoproteína de Alta Densidade. 2. Polimorfismo de Nucleotídeo Único. 3. Antioxidante. I. Título.  
CDD 615
-

RICHARD RARISON CAVALCANTE MENESES

ENVOLVIMENTO DO POLIMORFISMO DA APOLIPOPROTEINA A1 (rs670) NO  
TAMANHO E AÇÃO ANTIOXIDANTE DA LIPOPROTEÍNA DE ALTA DENSIDADE

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para o exame de defesa de Doutorado.

Aprovada em: \_\_/\_\_/\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

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

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Tiago Lima Sampaio  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Daniel Freire de Sousa  
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

---

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

---

Prof. Dra. Giovanna Riello Barbosa Correia  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser meu sustento, minha força e minha referência de amor. Meu caminho, verdade e vida.

Aos meus pais, Ricardo e Mônica, que são meu tudo, a quem tenho um amor e gratidão eterna por tudo que fizeram e ainda fazem por mim. Te amo mãe... te amo pai.

Ao meu irmão, Gdayllon, que é minha inspiração de pesquisador e de incentivo em não desistir dos rumos acadêmicos. Meu eterno amigo, parceiro e orientador pessoal. Te amo meu irmão. Você é muito importante pra mim.

A minha amada esposa, Kilvia, por sempre me apoiar e acompanhar nos meus projetos pessoais e profissionais. Por ser meu consolo, porto seguro, minha paz e meu aconchego. Fico muito feliz em ver os caminhos que estamos trilhando juntos e ainda temos muito a trilhar. Te amo muito meu amor.

A minha orientadora, Goretti, por ser apoiadora e guia dos meus projetos pessoais, profissionais e acadêmicos. Por confiar e acreditar em mim. Por me dar incentivos e “puxões de orelha” nas horas necessárias para eu abandonar o cansaço e a desmotivação e continuar firme de pé e continuar.

Ao meu co-orientador, Tiago, por incentivar e trazer força e inspiração para conclusão dessa pesquisa, contribuindo nas análises críticas dos trabalhos realizados e publicação de artigo científico. Você é uma grande força, Tiago. Minha gratidão.

Ao meu amigo, Ederson, por ser um grande incentivo para eu concluir o doutorado e por me ajudar no entendimento e realização de análises laboratoriais da pesquisa. Muito obrigado amigo.

"Comece fazendo o que é necessário,  
depois o que é possível e de repente  
você estará fazendo o impossível"  
(São Francisco de Assis).

## RESUMO

As doenças cardiovasculares, dentre as doenças crônicas não transmissíveis, são a principal causa de morte no mundo. Existem vários fatores de risco para o desenvolvimento dessas doenças cardíacas, podendo ser fatores modificáveis (hipertensão, obesidade, dislipidemia, diabetes) e os não-modificáveis (genética, idade e sexo). Diversos fatores não modificáveis podem influenciar no metabolismo lipoproteico, especificamente em alterações na funcionalidade da lipoproteína de alta densidade (HDL), e o impacto que o fator genético pode ter nessas funções, mais especificamente o estudo de polimorfismos genéticos. Nesse contexto, destaca-se o polimorfismo de nucleotídeo único rs670 do gene da apolipoproteína A1, no qual o alelo selvagem tem a guanina (G) trocada pela adenina (A) no alelo polimorfo. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar o envolvimento do polimorfismo da Apo A1 (rs670) no tamanho e ação antioxidante da lipoproteína de alta densidade (HDL). Para tanto, foram incluídos no estudo 78 indivíduos voluntários, de ambos os sexos, com 20 a 75 anos, atendidos no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Ceará, sendo, posteriormente, separados em dois grupos de acordo com a presença do alelo A referente ao polimorfismo do gene da Apo A1 (rs670). Nos indivíduos incluídos foi aplicado um formulário para obtenção de informações socioeconômicas, culturais e clínicas, além de serem realizados: análises antropométricas; análises de perfil glicolipídico (glicemia, colesterol total e frações, triglicerídeos, Apolipoproteína A, Apolipoproteína B, ácidos graxos não esterificados, índice-ômega-3) de amostras sanguíneas obtidas; análise das subfrações da HDL (*Lipoprint System, Quantrimetrix®*); análise da função antioxidante da HDL por ensaio de *lagtime*; e genotipagem do polimorfismo rs670 do gene ApoA1, usando sistema TaqMan. Foi observado que não houve diferenças nos parâmetros do perfil glicolipídicos e antropométricos entre os grupos quanto a presença ou não do alelo A; glicemia, triglicerídeos, IMC e CC tiveram correlação inversamente proporcional com a concentração c-HDL (colesterol-HDL) em indivíduos sem alelo A, entretanto essa correlação deixa de existir quando o alelo A esteve presente; houve correlação positiva entre concentração de c-HDL e a razão de HDL 1-2/9-10 (concentração de partículas grandes dividido por partículas pequenas) independente do rs670, mas essa correlação se mostrou mais forte ( $\rho=0,827$  ;  $p=0,001$ ) em indivíduos portadores do alelo A. Glicemia e índice de ApoB/ApoA tiveram correlação negativa com a razão HDL 1-2/9-10 em indivíduos com alelo A; o *lag time* HDL não apresentou associação com rs670 nem correlação com os parâmetros antropométricos e

glicolípídicos quanto a presença do alelo A. Apesar da não associação do tamanho de partícula de HDL com a presença do alelo A em uma abordagem univariada, em um ajuste de regressão multivariada, a razão de HDL 1-2/9-10 elevada esteve associado independentemente com a presença do alelo A, no contexto de alterações no perfil glicolípídico e antropométrico. No entanto, a função antioxidante do HDL, analisada pelo *lag time*, não teve associação com a presença do alelo A em todos os modelos de regressão. Em conclusão, o polimorfismo da ApoA1 (rs670) parece ter influencia importante no tamanho das partículas de HDL em alterações no perfil glicolípídico e antropométrico.

**Palavras-chave:** Polimorfismo de Nucleotídeo Único; Lipoproteína de Alta Densidade; Antioxidante.



## ABSTRACT

Cardiovascular diseases, a non-communicable chronic diseases, is an important cause of death worldwide. There are several risk factors for the development of these heart diseases, including modifiable factors (hypertension, obesity, dyslipidemia, diabetes) and non-modifiable factors (genetics, age, and sex). Non-modifiable factors may influence lipoprotein metabolism, specifically alterations in high-density lipoprotein (HDL) functionality and genetic factors on these functions, mainly genetic polymorphisms. In this context, the single nucleotide polymorphism rs670 of the Apo A1 gene is highlighted, in which the wild-type allele has guanine (G) replaced by adenine (A) in the polymorphic allele. Thus, the objective of this study was to evaluate the involvement of the Apo A1 (rs670) polymorphism in the size and antioxidant action of high-density lipoprotein (HDL). For this purpose, 78 volunteer individuals of both sexes, aged 20 to 75, attending the Laboratory of Clinical and Toxicological Analysis at the Federal University of Ceará, were included. Two groups were constructed according to the presence of the A allele related to the Apo A1 (rs670) gene polymorphism. Data collection included socio-economic, cultural and clinical information, anthropometric analyses, glycolipid profile analyses (glucose, total cholesterol, cholesterol fractions, triglycerides, Apolipoprotein A, Apolipoprotein B, non-esterified fatty acids, omega-3 index) of obtained blood samples; analysis of HDL subfractions (Lipoprint System, Quantimetrix®); analysis of HDL antioxidant function through lag time assay; and genotyping of the rs670 polymorphism of the ApoA1 gene using the TaqMan system. There was observed no differences in glycolipid and anthropometric profile parameters between the groups concerning the presence or absence of the A allele; glucose, triglycerides, BMI, and waist circumference had an inversely proportional correlation with c-HDL (HDL cholesterol) concentration in individuals without the A allele, but this correlation ceased to exist when the A allele was present; there was a positive correlation between c-HDL concentration and the HDL 1-2/9-10 ratio (concentration of large particles divided by small particles) independent of rs670, but this correlation was stronger ( $\rho=0.827$ ;  $p=0.001$ ) in individuals carrying the A allele. Glucose and ApoB/ApoA index showed a negative correlation with the HDL 1-2/9-10 ratio in individuals with the A allele; lag time HDL showed no association with rs670 or correlation with anthropometric and glycolipid profile parameters regarding the presence of the A allele. Although there was no association between HDL particle size and the presence of the A allele in a univariate approach, in a multivariate regression analysis, an elevated HDL

1-2/9-10 ratio was independently associated with the presence of the A allele, in the context of glycolipid and anthropometric profile alterations. However, HDL's antioxidant function, analyzed by lag time, showed no association with the presence of the A allele in all regression models. In conclusion, the ApoA1 (rs670) polymorphism appears to have an important influence on the size of HDL particles in the scenario with glycolipid and anthropometric profile alterations.

**Keywords:** Single Nucleotide Polymorphism; High-Density Lipoprotein; Antioxidant.

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>12</b>
1.1	Doenças crônicas não transmissíveis	12
1.2	Doenças cardiovasculares	12
1.3	Dislipidemia	13
1.4	Lipoproteínas	13
1.4.1	Lipoproteína de alta densidade	14
1.4.1.1	Subfrações da lipoproteína de alta densidade	16
1.5	Papel da HDL no metabolismo lipídico	19
1.6	Funções da HDL	23
1.6.1	Ação antioxidante da HDL	23
1.6.2	Ação anti-inflamatória da HDL	24
1.6.3	Ação antitrombótica da HDL	25
1.7	HDL e a influência de fatores genéticos e nutricionais	26
1.7.1	Ácidos graxos não esterificados (NEFAS)	26
1.7.2	Índice de ômega-3	27
1.7.3	Genética e HDL	28
1.7.3.1	Polimorfismo de nucleotídeo único (SNP)	28
1.7.3.2	Polimorfismo do gene da Apo AI	29
1.7.3.3	Outros polimorfismos relacionados ao metabolismo da HDL	31
<b>2.</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b>	<b>34</b>
<b>3.</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>36</b>
3.1	Objetivo Geral	36
3.2	Objetivos Específicos	36
<b>4.</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>37</b>
4.1	População, tamanho da amostra e tipo de estudo	37
4.2	Crítérios de inclusão e exclusão	37
4.3	Avaliações socioeconômica, cultural e clínica	37
4.4	Avaliação antropométrica	38
4.5	Avaliação bioquímica	39
4.5.1	Obtenção de sangue	39
4.5.2	Marcadores do metabolismo lipídico e glicêmico	39
4.6	Determinação do perfil de ácidos graxos na membrana dos eritrócitos (índice ômega-3)	39
4.7	Análise das subfrações da HDL	41
4.8	<i>Avaliação da função antioxidante da lipoproteína HDL</i>	42
4.9	<i>Genotipagem do polimorfismo da Apo AI (rs670)</i>	44
4.10	Análise estatística	50
4.11	Aspectos éticos	50
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>52</b>
5.1	Características sociodemográficas e clínicas no grupo total e de acordo com a presença do Alelo A	52

5.2	Perfil antropométrico e glicolipídico e a presença do Alelo A.	54
	Características das partículas de HDL de acordo com a presença do alelo	
5.3	A.	55
6.	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>60</b>
7.	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>66</b>
8.	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>67</b>
9.	<b>ANEXOS</b>	<b>75</b>
	Anexo 1	75
	Anexo 2	78
	Anexo 3	81

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1 Doenças crônicas não transmissíveis**

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são condições de saúde de longa duração e progressão lenta, que geralmente se desenvolvem ao longo do tempo e têm uma relação complexa com fatores genéticos e ambientais. Essas doenças representam uma carga significativa para a saúde pública em todo o mundo. Todas as DCNT podem ser preveníveis ou controláveis por meio de medidas como adoção de estilos de vida saudáveis, diagnóstico precoce, tratamento adequado e gestão de fatores de risco. Alguns exemplos dessas doenças são: câncer, doenças respiratórias crônicas, diabetes, doenças renais crônicas e doenças cardiovasculares (BRUINS, M. J., 2019).

### **1.2 Doenças cardiovasculares**

As doenças cardiovasculares (DCV) referem-se a um grupo de condições que afetam o coração e os vasos sanguíneos. Elas são uma das principais causas de morte em todo o mundo. Alguns exemplos comuns de doenças cardiovasculares incluem a doença arterial coronariana, o acidente vascular cerebral (AVC), a insuficiência cardíaca e as doenças das válvulas cardíacas (ROTH, G. A., 2020).

As DCV têm uma significativa carga global de morbidade e mortalidade. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que 18,6 milhões de pessoas morreram de doenças cardiovasculares em 2019, representando cerca de 32% de todas as mortes registradas globalmente. Permaneceu sendo a principal causa de morte entre 2000 a 2019 e nestes anos as mortes por doenças cardíacas aumentaram de 2 milhões em 2000 para 9 milhões em 2019 (ROTH, G. A., 2020).

No Brasil, as DCV são a causa de morte número 1, sendo responsáveis por cerca de 30%, quase um terço, de todas as mortes registradas no país, e podem variar em prevalência e características em diferentes regiões. Observou-se redução na taxa de mortalidade ajustada por idade de 1990 a 2019 em todas as regiões, embora menos significativa no Norte e Nordeste em comparação às outras regiões (OLIVEIRA, G. M. M., 2022).

No Ceará, entre as doenças crônicas não transmissíveis, as DCV tem um comportamento crescente de mortalidade de 1997 a 2016. Destaca-se três tipos de DCV que apresentaram os seguintes aumentos percentuais no período supracitado: doenças

cerebrovasculares (67,5%); doenças isquêmicas do coração (123,0%) e doenças hipertensivas (313,5%) (CARDOSO, A. R. P., 2017).

As DCV estão associadas a variados fatores de risco: tabagismo; obesidade; diabetes; estilo de vida sedentário; dieta pouco saudável; histórico familiar de doenças cardíacas; hipertensão arterial; e, dislipidemias.

### **1.3 Dislipidemia**

A dislipidemia trata-se de um grupo heterogêneo de desordens caracterizados por níveis anormais de lipídios (gorduras) no sangue, como colesterol e triglicérides, e lipoproteínas. Exemplificando os diferentes tipos de dislipidemia têm-se: a hipercolesterolemia que é caracterizada pelo aumento das concentrações de colesterol presente na LDL (lipoproteína de baixa densidade). O acúmulo excessivo de colesterol LDL (c-LDL) nas paredes das artérias pode levar à formação de placas ateroscleróticas, obstruindo o fluxo sanguíneo e aumentando o risco de eventos cardiovasculares; a hipetrigliceridemia que é caracterizada pelo aumento das concentrações de triglicérides (TG), que são outra forma de lipídeo sanguíneo, e este aumento também está associado ao aumento do risco de DCV; a dislipidemia mista que é uma combinação de concentrações altas de c-LDL e TG; e, baixas concentrações de colesterol presente na HDL (lipoproteína de alta densidade), e que ajuda a remover o colesterol dos tecidos do corpo e transportá-lo para o fígado a fim de ser metabolizado (PATNI, N., 2023).

Vários fatores podem contribuir para o desenvolvimento de dislipidemia, incluindo dieta rica em gorduras saturadas e trans, falta de atividade física, obesidade, tabagismo, diabetes, histórico familiar de dislipidemia e certas condições genéticas.

O diagnóstico de dislipidemia é geralmente feito por meio de exames de sangue que medem o perfil lipídico, que é composto pela contração de TG, colesterol total (CT), c-HDL e c-LDL.

### **1.4 Lipoproteínas**

As lipoproteínas desempenham um papel fundamental no transporte e metabolismo dos lipídeos no organismo. Como os lipídeos são insolúveis em água, eles precisam ser encapsulados em partículas chamadas lipoproteínas para serem transportados pelo sangue. Estes transportadores consistem em uma combinação de

lipídeos, principalmente triglicerídeos e colesterol, e proteínas, formando partículas esféricas com uma camada externa composta por proteínas (apolipoproteínas) e fosfolipídios e um núcleo interno contendo os lipídios (FEINGOLD, K. R., 2022).

O papel das lipoproteínas é transportar os lipídeos para os tecidos que necessitam deles, como células musculares, tecido adiposo e órgãos vitais. Elas atuam como veículos de entrega, permitindo a distribuição eficiente dos lipídeos pelo organismo. E desempenham outros papéis importantes, como a regulação do metabolismo lipídico, a interação com enzimas e receptores celulares e a participação em processos inflamatórios e imunológicos (FEINGOLD, K. R., 2022).

As lipoproteínas são classificadas de acordo com o tipo de lipídeo mais prevalente que está transportando, função, tipo de apolipoproteínas associadas e de acordo com a densidade. Por exemplo: os quilomicrons são lipoproteínas de grande tamanho e menor densidade e sua função principal é transportar os triglicerídeos alimentares do intestino delgado para os tecidos periféricos; lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) são sintetizadas pelo fígado e transportam triglicerídeos endógenos (produzidos pelo fígado) para os tecidos periféricos; lipoproteína de densidade intermediária (IDL) é pouco prevalente no organismo, sendo composta por triglicerídeos e ésteres de colesterol, ficando responsável pelo transporte endógeno de triglicerídeos e colesterol; lipoproteínas de baixa densidade (LDL) são responsáveis pelo transporte do colesterol e outros lipídios para os tecidos periféricos; e, lipoproteínas de alta densidade (HDL) que têm a função de captar o excesso de colesterol dos tecidos periféricos e das outras lipoproteínas, transportando-o de volta para o fígado para ser eliminado ou reciclado (ARNAO, V., 2019).

#### **1.4.1 Lipoproteína de alta densidade (HDL)**

A lipoproteína de alta densidade (HDL) é uma classe de lipoproteínas encontrada no sangue e sua densidade elevada é devido à sua maior proporção de proteínas em relação aos lipídios. Esse diferencial em riqueza proteica soma quase 100 proteínas que incluem, enzimas, proteínas de transferência de lipídios, proteínas de resposta de fase aguda, componentes do complemento e inibidores de proteinase e apolipoproteínas (SOPPERT, J. 2020).

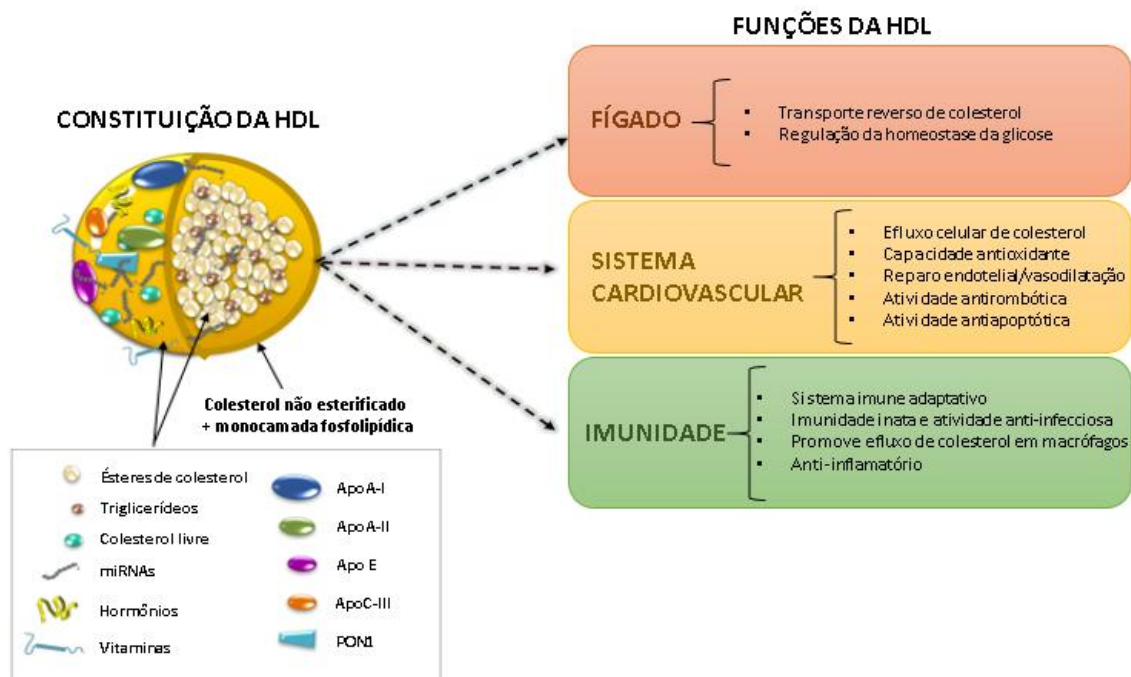
A HDL é sintetizada, principalmente, no fígado e no intestino delgado, e consiste em uma combinação de proteínas e lipídios, incluindo colesterol e fosfolipídios. A apolipoproteína A-I (apo A-I) é a principal proteína estrutural da HDL, seguida da apolipoproteína A-II (apo A-II) que existe em menor quantidade (BEN-AICHA, S., 2020).

A apo A-I constitui 70% do total de proteínas da HDL e tem como objetivos realizar a interação da HDL com proteínas de ligação como o ABCA1 (cassete de ligação ao ATP A1), ABCG1, SR-B1 (receptor *scavenger* classe B tipo 1) a fim de captar colesterol de tecidos extra hepáticos para a metabolização no fígado, além de ser um ativador de enzimas como a lecitina colesterol aciltransferase (LCAT), permitindo a conversão do colesterol livre em éster de colesterol (FEINGOLD, K. R., 2022).

A estrutura da HDL é organizada em camadas concêntricas, com diferentes componentes em cada uma delas. Há um núcleo lipídico que é composto principalmente por ésteres de colesterol e triglicerídeos. Esses lipídeos são insolúveis em água e são armazenados no interior da partícula de HDL, conferindo-lhe uma aparência esférica. Tem, também, uma camada de fosfolipídeos que estão localizados na camada externa da HDL. Eles possuem uma parte polar, que é hidrofílica (afinidade por água), e uma parte apolar, que é hidrofóbica (repulsão por água). Os fosfolipídeos se orientam com suas partes polares voltadas para fora, interagindo com a água do meio extraparticular, enquanto suas partes apolares se voltam para dentro, interagindo com o núcleo lipídico. Outro componente são as apolipoproteínas que são as proteínas estruturais e estão localizadas tanto na camada externa quanto na camada interna da HDL, interagindo com os fosfolipídios, colesterol e outras proteínas (Figura 1). E as moléculas de colesterol que estão presentes tanto no núcleo lipídico quanto na camada externa da HDL. Além desses componentes principais, a HDL também pode conter outras proteínas, como enzimas antioxidantes e proteínas envolvidas na modulação do metabolismo lipídico (BEN-AICHA, S., 2020).



**Figura 1.** Constituição da HDL e suas funções em diferentes sistemas celulares



Fonte: Figura adaptada de Ben-Aicha, S. et. al. (2020)

A estrutura e composição da HDL são dinâmicas e podem variar em resposta a diferentes estímulos metabólicos e fisiológicos. Essa versatilidade permite que a HDL desempenhe suas funções biológicas, como a remoção de excesso de colesterol das células e a proteção contra doenças cardiovasculares (FEINGOLD, K. R., 2022).

É importante ressaltar que a estrutura da HDL é complexa e existem diferentes subfrações de HDL com composições e funções específicas. Essa complexidade está sendo cada vez mais estudada para melhor compreender o papel da HDL na saúde cardiovascular e o potencial terapêutico dessas partículas (SOPPERT, J. 2020).

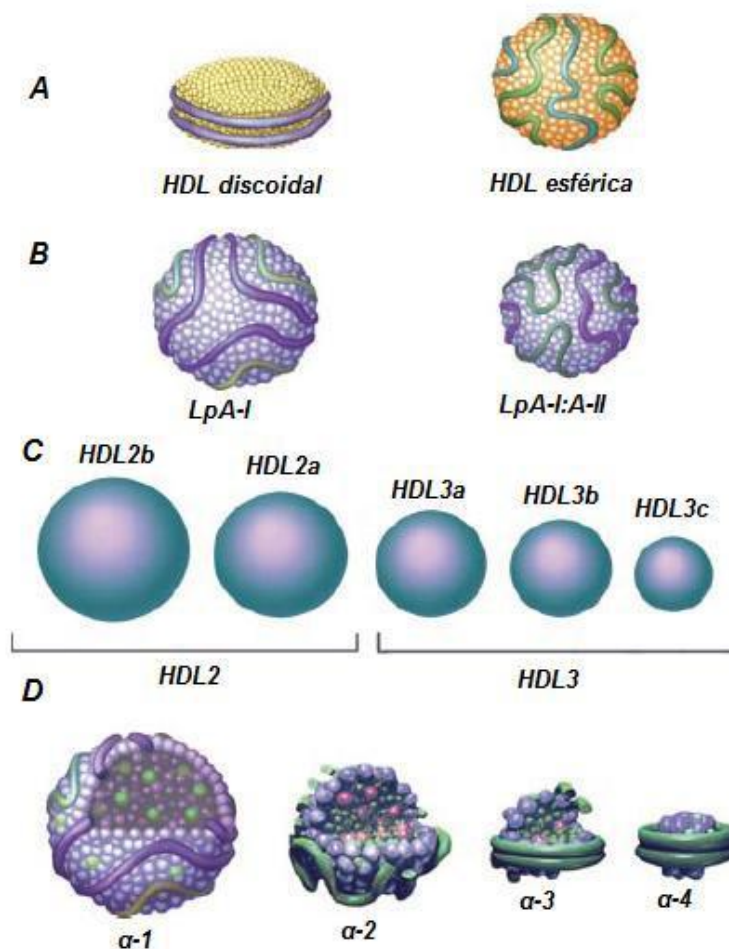
#### 1.4.1.1 Subfrações da lipoproteína de alta densidade

As HDLs podem ser diferenciadas com base na composição de suas apolipoproteínas. A apolipoproteína A1 (apoA-I) é a principal apolipoproteína presente na HDL e desempenha um papel fundamental em suas funções, como a promoção do transporte reverso de colesterol. A apolipoproteína A2 (apoA-II) também está presente

na HDL, mas em menor quantidade em comparação com a apoA-I (FEINGOLD, K. R., 2022).

As apolipoproteínas são proteínas estruturais que ajudam a estabilizar e dar função às lipoproteínas, incluindo a HDL. Além da apoA-I e da apoA-II, a HDL também contém outras apolipoproteínas, como apoC, apoE e apoM, entre outras. Essas apolipoproteínas desempenham papéis específicos na metabolização do colesterol, no transporte de lipídios e nas interações com receptores celulares (FEINGOLD, K. R., 2022). Embora as apolipoproteínas A-I e A-II estejam presentes na HDL, a subdivisão da HDL com base na composição dessas apolipoproteínas não é uma classificação comum. Em vez disso, outras classificações que são mais utilizadas das subfrações da HDL é baseada em suas características físico-químicas, como tamanho, densidade e composição lipídica.

**Figura 2. Populações heterogêneas das partículas de HDL.** As principais subfrações de HDL diferem em forma (A), composição de apolipoproteínas (B), densidade e tamanho (C) e mobilidade eletroforética (D).



Fonte: figura adaptada de Panzoldo N. B., 2014

A HDL é altamente heterogênea em termos de tamanho, densidade e composição (Figura 2). Com base nessas características, a HDL é dividida em várias subfrações, sendo as principais: HDL<sub>2</sub> é rica em proteínas estruturais, como apoA-I, e possui atividade antioxidante e capacidade de capturar e transportar colesterol; HDL<sub>3</sub> contem menos proteínas e mais triglicerídeos em relação ao colesterol; pré-beta-HDL, uma subfração inicial da HDL, que se forma durante a síntese e secreção da apoA-I, sendo pequena, densa e rica em fosfolípidios; e, HDL discoidal, uma subfração intermediária, que surge durante o processo de maturação da HDL, quando ocorre a transferência de colesterol das células para a HDL (ARNAO, V., 2019).

Essas subfrações da HDL podem ter funções distintas no metabolismo do colesterol e na proteção contra doenças cardiovasculares. Uma partícula de HDL grande é considerada mais cardioprotetora, devido às suas propriedades antioxidantes, anti-

inflamatórias e capacidade de promover a remoção de colesterol das artérias. Já uma partícula de HDL pequena tem uma capacidade de transporte de colesterol menos eficiente (CHO, KH., 2022).

E, por fim, existem algumas técnicas utilizadas para separação das subfrações da HDL, como, por exemplo, a ultracentrifugação em gradiente de densidade e a cromatografia líquida de alta performance (HPLC, do inglês *High-Performance Liquid Chromatography*) associada à detecção de apolipoproteínas específicas e, ainda, por eletroforese (FEINGOLD, K. R., 2022).

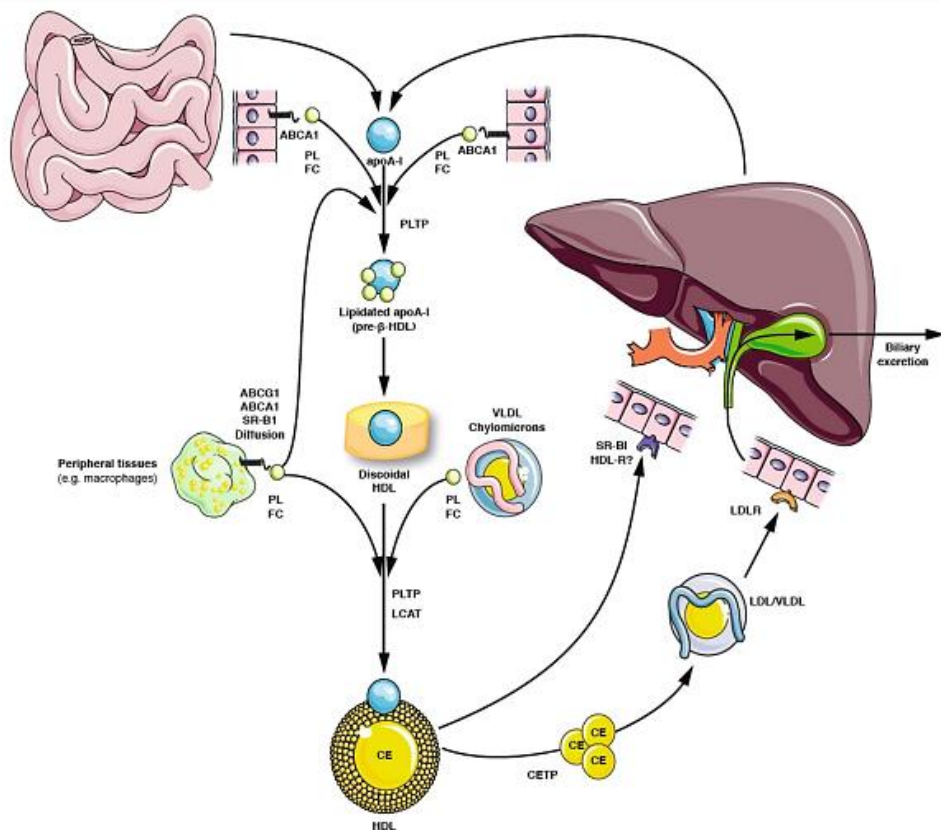
Importante enfatizar que essas subfrações lipoproteicas coexistem e possuem papéis específicos e distintos no metabolismo lipídico.

### **1.5 Papel da HDL no metabolismo lipídico**

A etapa inicial de formação da lipoproteína de alta densidade é a síntese de apo A-I no fígado e no intestino (Figura 3). Nestes é secretado a Apo A-1 que então adquire colesterol e fosfolipídios que são efluídos de células periféricas, como hepatócitos, enterócitos e macrófagos levando à formação de pré-beta-HDL (BEN-AICHA, S., 2020).

As células periféricas acumulam colesterol por meio da síntese de colesterol e da captação de colesterol das lipoproteínas circulantes. Apenas algumas células especializadas possuem mecanismos para diminuir os níveis de colesterol celular. As células intestinais podem secretar colesterol no lúmen intestinal e os sebócitos e queratinócitos podem secretar colesterol na superfície da pele. Células adrenais, testiculares e ovarianas podem converter o colesterol em hormônios esteróides. Outras células só podem diminuir o colesterol celular por meio do transporte reverso do colesterol. A capacidade dos macrófagos na parede arterial de remover eficientemente o colesterol pela via de transporte reverso do colesterol pode desempenhar um papel importante na prevenção da aterosclerose (FEINGOLD, K. R., 2022).

**Figura 3.** Produção da HDL e seu papel no metabolismo das lipoproteínas.



ABCA1 = Transportador de cassete de ligação de ATP A1, FC = Colesterol livre, LCAT = Lecitina-colesterol aciltransferase, ABCG1 = Transportador de cassete de ligação de ATP G1, SR-B1 = Receptor scavenger classe B tipo 1, CETP = Proteína transportadora de colesterol esterificado, CE = Ésteres de colesterol, PL = Fosfolipídeos, LDLR = receptores de LDL, PLTP = Proteína transportadora de fosfolipídeos.

Fonte: Figura adaptada de Märs W. et. al. (2017).

O efluxo de colesterol e fosfolipídios para partículas pré-beta-HDL pobres em lipídios é facilitado pelo receptor ABCA1 (Figura 4) e pacientes com mutações de perda de função nesse receptor são incapazes de adicionar lipídios à recém-secretada Apo A-I, sendo degradada rapidamente e resultando em níveis baixos de HDL. Enquanto que o efluxo de colesterol celular para partículas maduras de HDL é mediado por ABCG1 (SOPPERT, J. 2020). ABCA1 e ABCG1 são regulados positivamente pela ativação de LXR, um fator nuclear de transcrição hormonal que é ativado por oxisteróis. À medida que o colesterol celular aumenta, a formação de oxisteróis é aumentada, resultando na

ativação de LXR, que estimula a expressão de ABCA1 e ABCG1, resultando em um aumento no efluxo de colesterol das células para o HDL (FEINGOLD, K. R., 2022).

O pré-beta HDL pode receber a transferência de colesterol e fosfolípidos de quilomícrons e VLDL, que são lipoproteínas ricas em triglicerídeos, o que explica a observação de que pacientes com níveis plasmáticos elevados de triglicerídeos devido à diminuição do metabolismo da lipoproteína rica em triglicerídeos geralmente também apresentam níveis baixos de HDL. O metabolismo das lipoproteínas ricas em triglicerídeos também resulta na transferência de apolipoproteínas para HDL. O movimento de fosfolípidos entre lipoproteínas é facilitado pela proteína de transferência de fosfolípidos (PLTP) (FEINGOLD, K. R., 2022).

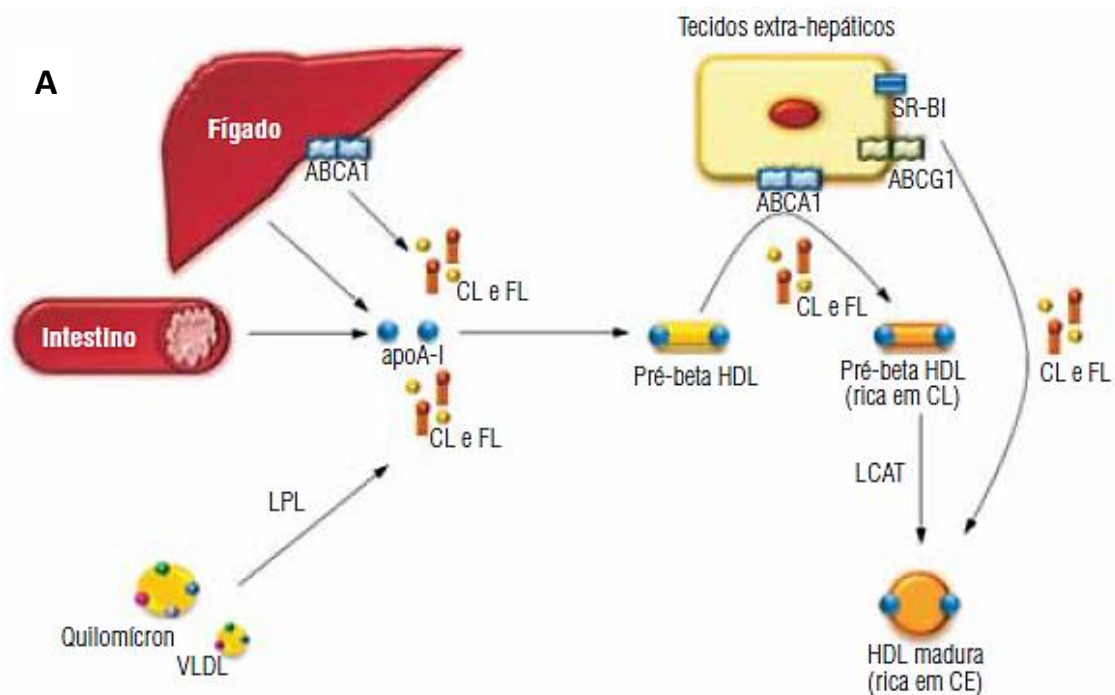
O colesterol livre que é efluído das células para o HDL e para formar grandes partículas esféricas maduras de HDL, deve ser esterificado. Este processo é facilitado pela enzima LCAT, que é ativado pela Apo A-I que está associada ao HDL e que catalisa a transferência de ácidos graxos dos fosfolípidos para o colesterol livre, resultando na síntese de ésteres de colesterol que migram da superfície das partículas de HDL para o núcleo (CHO, KH., 2022).

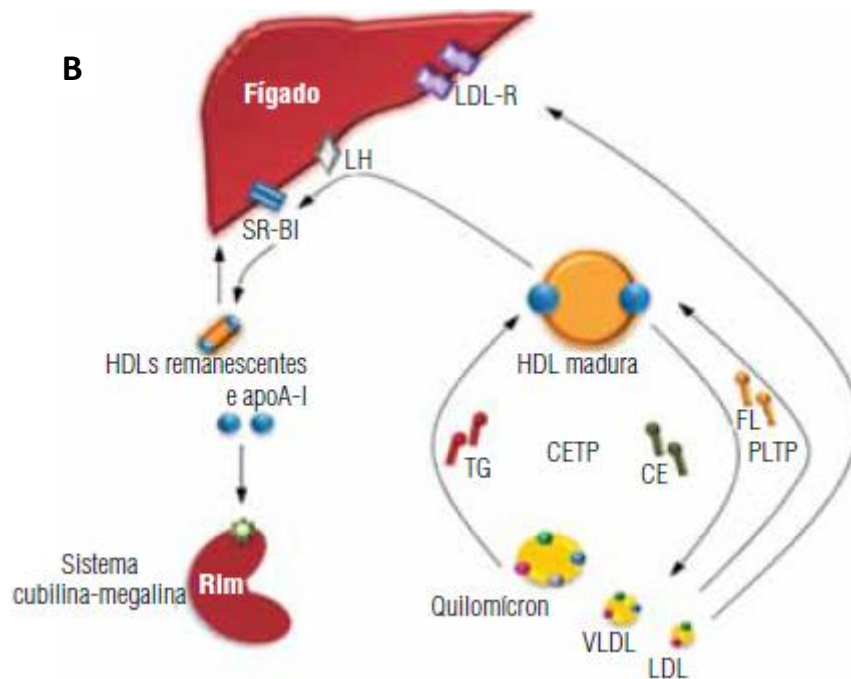
O tamanho e a composição das partículas de HDL são determinados por lipases e proteínas de transferência. Por exemplo, a CETP que medeia a transferência de ésteres de colesterol do núcleo das partículas de HDL para lipoproteínas contendo Apo B em troca de triglicerídeos (ARNAO, V., 2019). Os triglicerídeos transferidos para HDL podem ser metabolizados pela lipase hepática (LH) resultando em pequenas partículas de HDL. A Apo A-I dissocia-se mais facilmente do pequeno HDL, resultando no aumento da degradação da Apo A-I. Os seres humanos deficientes na atividade da CETP têm grandes partículas de HDL e níveis muito altos de colesterol HDL. Como seria de esperar, a ausência de CETP também resulta em uma diminuição nos níveis de colesterol LDL. A deficiência genética da lipase hepática resulta em partículas de HDL maiores e uma elevação modesta nos níveis de colesterol HDL. Os fosfolípidos transportados nas partículas de HDL são hidrolisados pela lipase da célula endotelial (FEINGOLD, K. R., 2022).

O colesterol HDL é entregue principalmente ao fígado. SR-B1, que promove a absorção seletiva de colesterol HDL medeia a absorção de colesterol HDL pelo fígado. As partículas de HDL se ligam ao SR-BI hepático e o colesterol em HDL é transportado

para o fígado sem a internalização da partícula de HDL. Isso resulta em uma partícula de HDL menor e sem colesterol, que é então liberada de volta para a circulação (BEN-AICHA, S., 2020). O SR-B1 é um receptor chave para o transporte reverso de colesterol, pois a existência de deficiência nele, apesar de aumentar as concentrações de c-HDL, pode elevar o risco de doenças ateroscleróticas, devido ao comprometimento do transporte reverso de colesterol (FEINGOLD, K. R., 2022). E existe outra via para o colesterol ser carregado na HDL para o fígado que é através da transferência do colesterol via CETP para as partículas de lipoproteína Apo B com a subsequente captação de lipoproteínas contendo Apo B pelo fígado (BEN-AICHA, S., 2020).

**Figura 4.** Etapas do transporte reverso de colesterol.





A: remoção de colesterol dos tecidos periféricos e formação da HDL madura. B: remoção das partículas de HDL pelo fígado e formação de remanescentes de HDL.

Fonte: Figura adaptada de Leança C. C. et. al. (2010)

O colesterol entregue ao fígado pode ser eliminado do corpo por 2 vias. Primeiro, o colesterol pode ser secretado na bile, um processo que é facilitado por ABCG5 e ABCG8. A expressão destes receptores é aumentada pela ativação de LXR e, portanto, um aumento nos níveis de colesterol hepático resulta em um aumento na produção de oxisterol, aumentando assim a ativação de LXR e a secreção de ácido biliar. Em segundo lugar, o colesterol pode ser convertido em ácidos biliares e secretado na bile (FEINGOLD, K. R., 2022).

A Apo A-I é metabolizada independentemente do colesterol HDL, sendo a maior parte da Apo A-I catabolizada pelos rins e o restante catabolizado pelo fígado. O rim filtra a Apo A-I livre ou pobre em lipídios, que é então captada pelos túbulos renais. O tamanho da partícula de Apo A-I determina se ela pode ser filtrada pelos rins e, portanto, o grau de lipidação de Apo A-I determina a taxa de metabolismo. HDL pobre em lipídios leva ao catabolismo rápido de Apo A-I pelo rim. Condições ou estados de doença que resultam em HDL pobre em lipídios estão associados a baixos níveis de HDL e Apo A-I. No túbulo renal, a Apo A-I liga-se à cubilina, que em associação com a megalina, um membro da família do gene do receptor de LDL, resulta na captura e



degradação da Apo A-I filtrada pelas células tubulares renais. Os mecanismos pelos quais o fígado cataboliza Apo A-I são mal definidos. Partículas de HDL contendo Apo E podem ser absorvidas pelo receptor de LDL e outros receptores de Apo E no fígado e degradadas (FEINGOLD, K. R., 2022).

## **1.6 Funções da HDL**

A principal função da HDL é a remoção do excesso de colesterol dos tecidos periféricos, incluindo as células do revestimento dos vasos sanguíneos, e o transporte desse colesterol de volta para o fígado. Além do transporte reverso do colesterol, a HDL tem várias outras propriedades benéficas para a saúde cardiovascular.

### **1.6.1 Ação antioxidante da HDL**

A HDL contribui para a proteção do organismo contra o estresse oxidativo através de algumas formas, e, primeiramente, é por meio da remoção e neutralização de radicais livres, que são moléculas instáveis e altamente reativas que podem danificar as células e as estruturas celulares (RUIZ-RAMIE, J. J., 2019).

A ApoA-I, além de ser fundamental para o efluxo de colesterol celular, previne a associação de lipídios oxidados ou fatores oxidantes com LDL, sequestrando essas moléculas. Além disso, protege o LDL do dano oxidativo induzido por radicais livres por sua capacidade de neutralizar os hidroperóxidos lipídicos derivados do LDL em hidróxidos lipídicos redox-inativos. Além disso, a ApoA-I se liga com alta afinidade à paraoxonase 1 (PON1), uma enzima, encontrada exclusivamente na HDL, capaz de bloquear a oxidação do LDL, melhorando assim a atividade e a estabilidade da PON1 (SOPPERT, J. 2020).

Além de PON1, duas outras hidrolases associadas a HDL, que são a LCAT e a fosfolipase A2 associada à lipoproteína (Lp-PLA2) impactam no aumento da capacidade da HDL de bloquear a oxidação do LDL ao catabolizar fosfolipídios oxidados. Assim como a PON1, a LCAT é encontrada exclusivamente no HDL. Além de seu papel na esterificação do colesterol, LCAT pode degradar mediadores aterogênicos na partícula de LDL, ou seja, fator ativador de plaquetas (PAF) e fosfolipídios oxidados (ZIMETTI, F. 2021).

Em contraste com PON-1 e LCAT, Lp-PLA2 associa-se principalmente com LDL e em menor grau com HDL. No LDL, ela cliva as fosfatidilcolinas oxidadas em lisofosfatidilcolina e ácidos graxos livres oxidados, com a lisofosfatidilcolina modulando muitos efeitos biológicos do LDL oxidado. Em contraste, existe a hipótese de que o HDL forneça um local mais seguro para a liberação de lisofosfolipídios que, de outra forma, danificariam potencialmente as membranas celulares e outras lipoproteínas (ZIMETTI, F. 2021).

Devido a essa importante capacidade da HDL, alguns estudos avaliam essa ação analisando, por exemplo, a quantidade de tempo que a HDL consegue impedir a formação de dienos conjugados após impor a LDL à oxidação induzida por cobre. Esse tempo de resistência dá-se o nome de *lag time* da HDL. Essa análise é utilizada em estudos de medicamentos, como estatinas, e comparação qualitativa da HDL entre indivíduos (VAVLUKIS, A., 2022; MENESES, R. R. C., 2022)

### **1.6.2 Ação anti-inflamatória da HDL**

A HDL por ser um fator importante para modulação do estresse oxidativo e este ser um componente importante para inflamação, faz com que a HDL tenha mais um ponto positivo como agente anti-inflamatório.

O efeito anti-inflamatório ocorre devido a redução da expressão de moléculas de adesão celular, incluindo molécula-1 de adesão celular intercelular (ICAM-1), molécula-1 de adesão celular vascular (VCAM-1) e E-selectina, nas células endoteliais. Essas moléculas são responsáveis pela adesão e migração de leucócitos para os locais de inflamação. Ao reduzir a expressão dessas moléculas, a HDL inibe a adesão e a entrada de leucócitos inflamatórios nos tecidos (LOTFOLLAHI, Z., 2020; BEN-AICHA, S., 2020).

Há, também, supressão da produção de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Essas citocinas desempenham um papel importante na indução e amplificação da resposta inflamatória. A redução na produção dessas citocinas ajuda a modular a resposta inflamatória e a reduzir o dano tecidual associado à inflamação (TANAKA, S., 2020; RUIZ-RAMIE, J. J., 2019).

Como já visto, anteriormente, a HDL ajuda na preservação da função endotelial e, além disso, restaura e mantém a função adequada do endotélio, diminuindo a permeabilidade vascular e prevenindo a entrada de substâncias pró-inflamatórias nos tecidos (LOTFOLLAHI, Z., 2020)

E, por último, a HDL tem a capacidade de remover lipopolissacarídeos (LPS), que são componentes da parede celular de bactérias Gram-negativas e podem desencadear uma resposta inflamatória. A HDL se liga ao LPS e o transporta para fora da circulação, prevenindo a ativação do sistema imunológico e a resposta inflamatória associada (TANAKA, S., 2020).

### **1.6.3 Ação antitrombótica da HDL**

Algumas funções específicas já supracitadas dão caminhos para a redução de trombos, como, por exemplo, a redução do estresse oxidativo causando, proporcionalmente, a redução da formação de coágulos. E a HDL, como já conhecido, é um agente preservante da função endotelial e isso se dá, também, por ser um promotor da produção de óxido nítrico (NO), que possui propriedades vasodilatadoras e anticoagulantes (BEN-AICHA, S., 2020; TANAKA, S., 2020).

A HDL reduz a expressão de moléculas pró-coagulantes, como o fator tecidual (TF), nas células endoteliais. O TF desempenha um papel importante na iniciação da cascata de coagulação. Ao reduzir a expressão do TF, a HDL diminui a predisposição para a formação de coágulos sanguíneos. Além disso, a HDL estimula a síntese de prostaciclina, que inibe a agregação plaquetária, fornecendo ácido araquidônico e induzindo a expressão da ciclooxygenase-2. E a HDL junto a apoA-I inibe a autoassociação do fator de von Willebrand, processo envolvido na ligação de plaquetas e formação de trombos oclusivos em pequenos vasos (PIRILLO, A., 2019).

A HDL, também, regula o sistema fibrinolítico, responsável pela dissolução de coágulos sanguíneos. Ela aumenta a produção e a atividade da enzima fibrinólise plasminogênio ativador tissular (t-PA), que está envolvida na degradação do coágulo sanguíneo. Ao promover a fibrinólise, a HDL contribui para a dissolução de coágulos existentes e impede a formação de novos coágulos. Estes também são reduzidos devido a HDL interferir em vias de sinalização envolvidas na ativação e agregação de plaquetas (LIMA, E. S., 2006).

Mediante a tantos efeitos benéficos da HDL existem várias pesquisas científicas que buscam entender e ser meios de promoção das principais maneiras de melhorias das funções da HDL que incluem adotar um estilo de vida saudável, como praticar exercícios regularmente, manter um peso corporal saudável, evitar o tabagismo, limitar o consumo de álcool, ter ciência das predisposições genéticas e seguir uma dieta equilibrada, rica em ácidos graxos ômega-3 e fibras.

### **1.7 HDL e a influência de fatores genéticos e nutricionais**

Tanto os hábitos de vida quanto a genética podem influenciar a HDL e a saúde cardiovascular de forma independente, mas também podem interagir entre si.

Sabe-se que os principais hábitos de vida que podem impactar benéficamente a produção e função da HDL são a prática de exercícios regulares, principalmente atividades aeróbicas, o controle de peso corporal e o não tabagismo, além da dieta, ricas em fibras solúveis, antioxidantes, ácidos graxos ômega-3 e baixas em gorduras saturadas e trans (PEREZ-BELTRAN, Y. E., 2022; RUDKOWSKA, I. 2013; RUIZ-RAMIE, J. J., 2019).

Neste estudo, de forma complementar, é analisado a presença de ácidos graxos ômega-3 e ácidos graxos não esterificados (NEFAS) como fatores que influenciam a produção e função da HDL e que impactam a saúde cardiovascular.

#### **1.7.1 Ácidos graxos não esterificados (NEFAS)**

Também conhecidos como ácidos graxos livres (AGL), NEFAs são moléculas de ácidos graxos que estão presentes no organismo na forma não esterificada, ou seja, não estão ligadas a outras moléculas, como glicerol, para formar triglicerídeos.

Os NEFAs são componentes importantes do metabolismo lipídico e desempenham diversos papéis no organismo. Eles são uma fonte de energia para as células, especialmente em períodos de jejum ou exercício intenso, quando os estoques de glicogênio são esgotados. Os NEFAs também são utilizados para a síntese de outros lipídios, como os fosfolipídios, que são componentes importantes das membranas celulares (SOBCZAK, A. I. S. 2019).

No entanto, altos níveis de NEFAs circulantes podem estar associados a condições metabólicas desfavoráveis. Em indivíduos com obesidade, resistência à insulina ou diabetes tipo 2, a liberação excessiva de NEFAs pelo tecido adiposo pode levar ao acúmulo de gordura em outros tecidos, como o fígado e os músculos, contribuindo para a resistência à insulina e o desenvolvimento de doenças metabólicas (SOBCZAK, A. I. S. 2019).

Altos níveis de NEFAs circulantes estão frequentemente associados a níveis reduzidos de HDL. Isso pode ocorrer porque os NEFAs interferem no transporte reverso de colesterol e na atividade da enzima lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT), que desempenha um papel importante na maturação e no metabolismo da HDL. E, níveis elevados de NEFAs podem resultar em uma diminuição na quantidade de fosfolípidios e apolipoproteínas presentes nas partículas de HDL, afetando sua capacidade antioxidante e anti-inflamatória (ROSALES, C., 2020).

### **1.7.2 Índice de ômega-3**

O ômega-3 é uma classe de ácidos graxos poli-insaturados que desempenham um papel importante na saúde cardiovascular. Esses ácidos graxos podem ser encontrados em fontes alimentares, como peixes de água fria (salmão, sardinha, cavala), nozes, sementes de linhaça e óleo de peixe (RUDKOWSKA, I. 2013).

O índice de ômega-3 é uma medida que avalia a quantidade de ácidos graxos ômega-3 de cadeia longa, como o ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosahexaenoico (DHA), presentes nas membranas celulares dos glóbulos vermelhos do sangue. Esses ácidos graxos ômega-3 são considerados essenciais, pois o corpo humano não é capaz de produzi-los em quantidades adequadas e, portanto, devem ser obtidos por meio da alimentação ou de suplementação (RODRIGUEZ, D. 2022).

Esse índice é expresso como uma porcentagem e é calculado dividindo-se a soma das concentrações de EPA e DHA nos glóbulos vermelhos do sangue pelo total de ácidos graxos ômega-3 e ômega-6. Em outras palavras, é uma medida da proporção de ômega-3 em relação aos outros ácidos graxos presentes nas membranas celulares (HARRIS, W. S., 2004).

A porcentagem de ômega-3 é frequentemente usada como um indicador do status de ômega-3 no organismo. Valores mais altos do índice são considerados

indicativos de uma maior ingestão e incorporação de ômega-3 na dieta. Pesquisas têm demonstrado que um índice mais elevado está associado a diversos benefícios para a saúde, como a redução do risco de doenças cardiovasculares, diminuição da inflamação, melhora da função cognitiva e suporte à saúde ocular (HARRIS, W. S., 2004).

Estudos científicos têm demonstrado que a ingestão adequada de ômega-3 está associada a um aumento nos níveis de HDL no sangue. O ômega-3 pode afetar o metabolismo lipídico de várias maneiras, incluindo o aumento da produção de HDL pelo fígado e a melhoria da função antioxidante da HDL (LIU, Q. K., 2021).

A medição do índice de ômega-3 é realizada por meio de uma amostra de sangue, geralmente coletada por punção venosa. As concentrações de EPA e DHA nos glóbulos vermelhos são determinadas por análises laboratoriais, como cromatografia gasosa ou espectrometria de massa (RUDKOWSKA, I. 2013).

É importante destacar que o índice é apenas um indicador do status de ômega-3 no organismo e não fornece informações sobre a ingestão total de ômega-3 na dieta. Além disso, embora seja um parâmetro relevante, não deve ser considerado isoladamente, sendo necessário avaliar outros aspectos relacionados à saúde e estilo de vida (RODRIGUEZ, D. 2022).

É importante ressaltar que a relação do ômega-3, NEFAS e HDL pode variar dependendo de diversos fatores, como a dose e a fonte do ômega-3 consumido, contexto metabólico, estado de saúde geral, estilo de vida e a genética individual (PEREZ-BELTRAN, Y. E., 2022).

### **1.7.3 Genética e HDL**

As variações genéticas de uma pessoa pode influenciar os níveis de HDL. Certas variações genéticas podem afetar a produção, o metabolismo e a função da HDL, resultando em níveis mais baixos de HDL mesmo com hábitos saudáveis.

As variações genéticas abordadas neste estudo foram os polimorfismos que são variáveis alélicas, ou seja, alelos mutantes de um determinado gene. Polimorfismos acontecem em uma frequência maior que 1% da população, ao contrário de mutações que ocorrem em menos de 1%. Os polimorfismos genéticos podem acontecer devido a uma troca de bases, uma duplicação, uma deleção de um ou vários pares de bases, ou

uma translocação cromossômica (FLORES, M. F. 2006; LANDER e WEINBERG, 2000; CORELLA e ORDOVAS, 2005).

### **1.7.3.1 Polimorfismo de nucleotídeo único (SNP)**

Polimorfismos de nucleotídeo único, também conhecidos como SNPs (do inglês Single Nucleotide Polymorphisms), são variações genéticas que ocorrem quando uma única base de nucleotídeo em um gene difere entre indivíduos. Essas variações são a forma mais comum de variação genética encontrada no genoma humano (SANTORO, A., 2010).

Os SNPs são a base da diversidade genética entre os indivíduos e podem ocorrer em diferentes regiões do DNA, incluindo genes codificadores de proteínas, regiões regulatórias e regiões não codificantes. Eles podem ser encontrados em todas as partes do genoma, ocorrendo aproximadamente a cada 1.000 bases (KAWASHIRI, M., 2018).

Existem diferentes tipos de SNPs. O tipo mais comum é o SNP bialélico, no qual há apenas duas formas alélicas (variantes) para o SNP em questão. Por exemplo, em um determinado SNP, um indivíduo pode ter a variante A e outro indivíduo pode ter a variante G. No entanto, também existem SNPs multialélicos, nos quais existem mais de duas variantes para um determinado SNP (CAETANO, A. R., 2009).

Os SNPs podem ter diferentes efeitos funcionais. Alguns SNPs estão localizados em regiões codificadoras de proteínas e podem levar a uma mudança na chamada “fase de leitura”, mudança que ocorre entre o códon de iniciação ATG e o códon de terminação da cadeia polipeptídica. Mudanças nas fases de leitura podem alterar o sentido daquele código, gerando proteínas não funcionais (perda de sentido ou parada prematura da síntese proteica). Esses SNPs são conhecidos como SNPs não sinônimos. SNPs sinônimos, por outro lado, ocorrem em regiões codificadoras, mas não alteram o aminoácido da proteína, devido à degeneração do código genético. Além disso, SNPs em regiões não codificantes podem afetar a regulação da expressão gênica, a estrutura do DNA ou a ligação de fatores de transcrição (CAETANO, A. R., 2009).

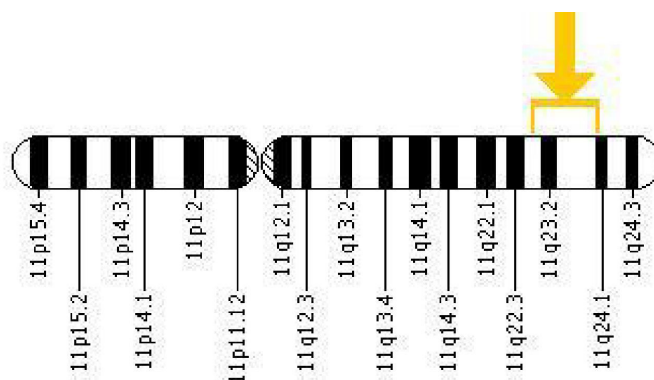
Os SNPs têm sido amplamente estudados em pesquisas genéticas e têm implicações significativas na genética humana, incluindo o estudo de doenças complexas, resposta a medicamentos, suscetibilidade a doenças e características fenotípicas individuais (KAWASHIRI, M., 2018).

Esses polimorfismos podem ocorrer no gene da Apo AI e que favorece o aparecimento de distúrbios no metabolismo lipídico, podendo trazer malefícios à saúde cardiovascular (BERTOLINI, S. et al. 2003).

### 1.7.3.2 Polimorfismo do gene da Apo AI

O gene da Apo AI está localizada na região 23 do braço longo do cromossomo 11 (11q23), como ilustrado nas figuras 5 e 6. O gene que regula a expressão da apo A-I codifica uma proteína composta por 243 aminoácidos e isto representa 79 % das proteínas presentes na HDL, mostrando-se uma proteína essencial para a formação da lipoproteína de alta densidade e o exercício de suas funções principais como efluxo de colesterol das células e ativação da enzima LCAT para a esterificação de colesterol (FLORES, M. F. 2006; BERTOLINI, S. et al. 2003; BALTHAZAR, E. A., 2012).

**Figura 5.** Localização do gene da Apo AI



Fonte: Figura adaptada de Balthazar, E. A., 2012.

A primeira descrição de alteração estrutural da apo AI foi feita em um estudo com uma família de origem italiana. Essa primeira alteração foi chamada de alelo Milano para Apo AI, e resulta de uma mutação que causa uma substituição do aminoácido arginina por cisteína na posição 173 (Arg173Cys) na seqüência da apo A-I (WEISGRABER et al., 1983).

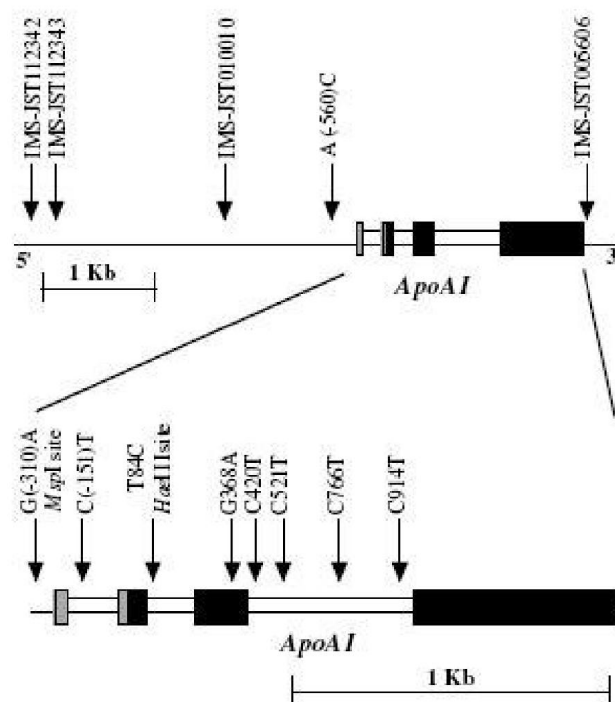
Exemplos de dois polimorfismos localizados a poucos nucleotídeos um do outro levam as substituições de uma guanina por uma adenina (G/A) no sítio -75 G>A (rs670)



e a transição de uma citosina por uma timina (C/T) no sítio +83C>T (rs5069). Ambas variantes alélicas tem sido associadas a alterações nas concentrações sanguíneas de c-HDL, a incidência de doenças cardiovasculares, hiperlipidemias familiares e, ainda, alterações na pressão sanguínea (ASSMANN et al.,1992; AL-YAHYAEE et al., 2004; KAMBOH et al., 1996; MA et al., 2005; WANG et al., 1996; ZOU et al., 2003).

Interessante mencionar que os polimorfismos rs670 e rs5069, anteriormente citados, tem suas expressões genéticas influenciadas por dietas alimentares ricas em ácidos graxos essenciais como Ômega-3 e Ômega-6 (ORDOVAS, 2006).

**Figura 6.** Esquema do gene apo A-1 e indicação de alguns polimorfismos encontrados.



Fonte: Figura adaptada de Flores, M.F., 2006.

Outro polimorfismo, o T84C HaeIII ApoA1 (rs5070), no gene apo A1 encontrou-se associado com hipertrigliceridemia e redução dos níveis plasmáticos de c-HDL (GROENEDJKI et al, 2001, YAMADA et al, 2007; SHIOJI et al, 2004)

Existem outros estudos sobre variações genéticas no gene da apo A1 que demonstram diferentes resultados voltados a alterações no metabolismo lipídico e fatores associados, como, por exemplo, sobre alterações na elevação da glicemia em mulheres, ou que não foi observado alterações glicolipídicas em crianças, ou que não foi

observado associação com doença arterial coronariana (FLORES, 2006; LARSON et al., 2002; DE FRANÇA et al., 2005; MANSUR et al., 2000).

### **1.7.3.3 Outros polimorfismos relacionados ao metabolismo da HDL**

A lipase hepática (LH), que é responsável pela quebra de lipídios das lipoproteínas, é composta por 449 aminoácidos e é codificada por seu gene localizado no cromossomo 15q21-q23 com um tamanho de fragmento >120kb de DNA (tabela 1). E a expressão genética da LH tem sido relacionada a alterações na concentração sanguínea de c-HDL de forma inversamente proporcional, assim como em pesquisas sobre variantes alélicas do gene (CARR et al, 2001; ISAACS et al, 2004; GÓMES et al, 2005; JI et al, 2002; ORDOVAS et al, 2002; SOMEKAWA et al., 2002; ZAMBON et al, 2001; ZHANG et al, 2005; YAMAKAWA-KOBAYASHI et al, 2002).

Outras variantes genéticas estudadas e relacionadas às doenças cardiovasculares são os polimorfismos do gene da apo E que se destacam por influenciar as concentrações de lipoproteínas. O gene da ApoE localiza-se no cromossomo 19q13.2, com uma extensão de 3160 pares de bases, consiste de 4 exons e três introns. Nesse locus gênico já foram identificados 84 polimorfismos, dentre estes, um é amplamente estudado que é a mutação missense a qual existe em 3 isoformas: E2, E3 e E4 (GOLLEDGE et al, 2010; MINIHANE et al, 2007; LOVEGROVE; GITAU, 2008; IZZO, 2008).

Variações no gene da LCAT (cromossomo 16q22.1), que codifica uma proteína madura de 416 aminoácidos, causam o aparecimento de três fenótipos que definem o surgimento estados deficientes de lipoproteína de alta densidade: deficiência familiar de LCAT; Doença do Olho de Peixe; e, hipoalfalipoproteinemia familiar. E, felizmente, na maioria desses casos, não há o aumento de doenças cardiovasculares, devido a diminuição, também, de lipoproteínas pró-aterogênicas contendo Apo B na presença de defeitos na LCAT (BERTOLINI, 2003).

A hipoalfalipoproteinemia (HA) familiar também pode ser causada por mutações genéticas no gene da lipoproteína lipase (cromossomo 8p22). A enzima LPL, composta por 448 aminoácidos, hidrolisa triglicerídeos em quilomícrons e VLDL na presença do co-fator apo C-III. E, indivíduos com polimorfismos no gene da LPL, são caracterizados

por terem hipertrigliceridemia, hiperquilomicronemia com, conseqüente, HA e aumento no risco de doenças cardiovasculares (BERTOLINI, 2003).

E, como último exemplo, tem-se a forma mais grave de hipoalfalipoproteinemia que é a doença de Tangier (DT) que é identificada em indivíduos com mutações no gene que codifica o ABCA1 (cromossomo 9q31) que é um transportador celular fundamental para o efluxo de fosfolípidos e colesterol não esterificado de tecido periféricos do organismo, e transferência desse lipídeos para partículas de apo A1 pobre em lipídeos. Com a deficiência de ABCA1, o efluxo de colesterol é prejudicado, ocasionando o acúmulo intracelular de ésteres de colesterol e, também, prevenindo a produção de HDLs nascentes a partir de partículas de apo A1 pobre em lipídeos, que, dessa forma, eleva a depuração de HDL do plasma. Além de aumentar a incidência de doenças cardiovasculares em 50% dos casos (BERTOLINI, 2003).

**Tabela 1.** Genes de apolipoproteínas, lipoproteínas e enzimas relacionadas ao metabolismo lipídico

Gene	Localização cromossômica	Função do produto protéico
Apolipoproteína A-1	11q	Componente de HDL; co-fator LCAT
Apolipoproteína A-IV	11q	Componente de quilomícrons e HDL; pode influenciar metabolismo de HDL
Apolipoproteína C-III	11q	Variação alélica associada à hipertrigliceridemia
Apolipoproteína B	2p	Ligante para o receptor de LDL; envolvida na formação de VLDL, LDL, IDL e QM
Apolipoproteína D	2p	Componente de HDL
Apolipoproteína C-I	19q	Ativação de LCAT
Apolipoproteína C-II	19q	Ativação de lipoproteína lipase
Apolipoproteína E	19q	Ligante para o receptor de LDL
Apolipoproteína A-II	1p	Componente de HDL
Receptor de LDL	19p	Captação de partículas circulantes de LDL
Lipoproteína (a)	6q	Transporte de colesterol
Lipoproteína Lipase	8p	Hidrólise de lipídios de lipoproteína
Lipase hepática	15q	Hidrólise de lipídios de lipoproteína
Lecitina colesterol acil-transferase	16q	Esterificação de colesterol
Proteína Transferidora de Ésteres de Colesterol	16q	Facilita transferência de ésteres de colesterol e lipoproteínas de fosfolípidos

Fonte: Figura adaptada de Flores, 2006.

## 2. JUSTIFICATIVA

Frente a significativa carga global na saúde pública de morbidade e mortalidade causada por doenças cardiovasculares, tornando esta a mais grave das doenças crônicas não transmissíveis, e sendo a responsável por, aproximadamente, 1/3 das mortes da população brasileira, tem sido realizado vários estudos para compreender as causas como fatores genéticos e ambientais e buscas de ações de controle e prevenções na população a fim de reduzir esses dados epidemiológicos que só crescem a cada ano.

Uma das principais causas das DCVs são as dislipidemias, que são disfunções do metabolismo lipídico e lipoprotéico, e estas têm como exemplo, as concentrações baixas de colesterol transportados pela HDL. Este estado de concentração reduzida de colesterol na lipoproteína de alta densidade impacta na diminuição do tamanho da partícula, que, conseqüentemente, impacta na piora das ações benéficas da HDL, como o transporte reverso de colesterol e, analisado nesse estudo, a ação antioxidante.

Ações podem ser tomadas para melhoria desse quadro como uso de terapias medicamentosas ou somente adequação de hábitos saudáveis que podem impactar tanto na quantidade de c-HDL como na funcionalidade da lipoproteína de alta densidade.

Mas há um fator que deve ser levado em consideração e que é um foco de contribuição desse estudo, que é o fator genético. E este pode mudar a resposta de um indivíduo em relação aos possíveis efeitos benéficos de uma intensidade de exercício físico ou tomada de medicamentos ou alimentação saudável. Essas reflexões são abordadas em alguns estudos recentes que estão expostos no quadro 1, onde cita algumas das 33 citações sobre o rs670 (Relatório de SNPs de referência da NIH/NCBI).

Portanto, como continuação a pesquisas realizadas anteriormente a esta, sobre a influência de fatores lipídicos, focando na hipoalfalipoproteinemia sobre a funcionalidade da HDL (MENESES, R. R. C., 2022), este estudo aborda o fator genético que pode vir a influenciar tanto na estrutura quanto na função da HDL.

**Quadro 1.** Citações sobre rs670 e suas relações com DCVs, perfil glicolipídico, antropométrico, dietas e outras temáticas (NIH/NCBI)

Izaola, O. et al., 2020	Genética como fator de variabilidade na resposta dietética; rs670 associado na redução de IMC, c-LDL e resistência à insulina; presença do alelo A associa-se ao aumento do c-HDL, diminuição de CC e massa gorda, além de trazer proteção ao estado de síndrome metabólica; genótipo AA relacionado ao aumento de glicemia
Ramezani-Jolfaie, N., et al. 2020	Com intervenção de óleo de gergelim e canela, indivíduos com alelo A demonstraram maior melhora no perfil lipídico e redução de fatores de risco cardiovascular; associação da presença do alelo A com o aumento de c-HDL em relação ao genótipo GG
Boes, E. et al. 2009	Estudo de 3 polimorfismos da Apo A1 (rs670, rs5069 e rs 5070) os quais mostram associação com as concentrações de c-HDL e impacto na incidência de doenças cardiovasculares
van Vliet-Ostaptchouk, J. V.; Snieder, H.; Lagou, V., 2012	Estudo de polimorfismos e seu impacto na incidência de obesidade
Rudkowska, I. et al., 2013	Estudo sobre polimorfismos e o índice de omega-3 e possíveis modulações sobre os fatores de risco de doenças cardiovasculares relacionados ao perfil lipídico
Wang, X. et al., 2018	Associação de polimorfismos do gene da Apo A1 no diferente tipos de obesidade e em diferenças de concentrações de c-HDL; alelo G mais associado a concentrações reduzidas de c-HDL
Wu, Y. et al., 2016	Mostra associações entre polimorfismo da Apo A1 e síndrome metabólica; rs670 associado com alterações nas concentrações de c-HDL e pressão arterial; alelo A com risco aumentado de síndrome metabólica
Wang, Y. et al., 2017	Associação de rs670 e outros polimorfismos da Apo A1 com AVC isquêmico, dislipidemias, síndrome metabólica e resistência à insulina; alelo T associado a risco aumentado de AVC isquêmico
Hosseini-Esfahani, F. et al., 2017	Alelo A associado com aumento de c-HDL e Apo A1; ingestão de açúcar foi associado a um menor risco de síndrome metabólica em alelo A
de Luis, D. A. et al., 2018	Papel do polimorfismo da Apo A1 (rs670) nos níveis de lipoproteínas e parâmetros antropométricos após a cirurgia de derivação biliopancreática (DBP) em pacientes obesos mórbidos
de Luis, D. A. et al., 2018	Expressão do gene da Apo A1 relacionado ao aumento de c-HDL e proteção contra aterosclerose; efeito do rs670 sobre a responsividade da concentração de c-HDL a mudanças da gordura dietética em normolipidêmicos; portadores de alelo A tiveram maior redução de adiposidade, IMC, massa gorda e CC em relação a não portadores; dieta rica em ácido graxos poliinsaturados reduziu c-LDL em em portadores de alelo A do que em não portadores; genótipo AA foram relacionados ao aumento de glicemia; alelo A associado como protetor contra síndrome metabólica
Wang, X. et al., 2018	Alelo G (rs670) com maior propensão no desenvolvimento de dislipidemias
Casillas-Muñoz, F. et al., 2018	Polimorfismos do gene da Apo A1 como agentes modificadores de riscos a eventos cardiovasculares; como alguns achados não foi visto contribuição do polimorfismo do gene da Apo A1 sobre a síndrome coronariana aguda e nas concentrações de Apo A1
Supajaree, P. et al., 2022	Alelo A com risco 1,46 vezes maior de doenças com concentrações de c-HDL baixo
Pérez-Beltrán, Y. E. et al., 2022	Revisão sobre nutrigenética, mostrando como a ingestão de ácidos graxos saturados, poli e mono insaturados podem modificar o metabolismo lipídico e que isso pode se diferenciar devido a fatores genéticos

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Avaliar o envolvimento do polimorfismo da Apolipoproteína A1 (rs670) no tamanho e ação antioxidante da lipoproteína de alta densidade (HDL).

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Identificar a presença do polimorfismo rs670 na população de estudo;
- Comparar perfil glicolípido e antropométrico quanto a presença do polimorfismo da Apo A1 (rs670);
- Investigar o impacto do polimorfismo da Apo A1(rs670) sobre a funcionalidade/qualidade da HDL;
- Avaliar a associação independente de parâmetros antropométricos, perfil glicolípido, ação antioxidante e tamanho da HDL com a presença do Alelo A do polimorfismo da Apo A1.

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1 População, tamanho da amostra e tipo de estudo**

Os indivíduos voluntários do estudo foram selecionados, através de uma pesquisa documental e atendidos no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas (LACT) vinculado à Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE) da Universidade Federal do Ceará (UFC). Este laboratório realiza exames direcionados, prioritariamente, ao fortalecimento do ensino dos próprios graduandos da Faculdade de Farmácia e promoção do acesso às comunidades mais fragilizadas economicamente.

A amostragem foi do tipo não probabilística do tipo conveniente. O estudo foi observacional analítico e transversal.

Considerando os critérios de inclusão e exclusão que serão descritos posteriormente, foram incluídos 78 indivíduos no espaço amostral e, em seguida, estes foram divididos em 2 grupos, de acordo com a presença ou não do alelo A referente ao polimorfismo do gene da Apo A1 (rs670).

### **4.2 Critérios de inclusão e exclusão**

Foram considerados elegíveis os indivíduos, com idade de 20 a 75 anos de ambos os sexos, sendo excluídos indivíduos que estivessem usando estatinas ou fibratos e, ainda, indivíduos desnutridos, grávidas ou lactentes, alcoolistas e usuários de drogas ilícitas.

### **4.3 Avaliação socioeconômica 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 discreta.

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.

#### 4.4 Avaliação antropométrica

Foram coletados os seguintes dados antropométricos: massa corporal (Kg), estatura (m) e circunferência da cintura (cm) como 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<sup>2</sup>). O valor do IMC foi classificado de acordo com a OMS (2003).

Utilizando uma fita inelástica, flexível, com precisão 1,0 mm, foi coletado a medida da circunferência da cintura (CC), 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<sup>®</sup>.

Os pacientes 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. 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.

## **4.5 Avaliação bioquímica**

### **4.5.1 Obtenção de sangue**

Amostras sanguíneas (20 mL) foram coletadas após jejum prévio de 12 horas. O sangue foi coletado em três tubos a 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 e a papa de hemácias e leucócitos que foi utilizado para a análise do índice ômega-3 e extração de DNA para a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR); os outros dois sem anticoagulante para obtenção do soro o qual foi usado para avaliar a função antioxidante da HDL, determinar o perfil glicolipídico, NEFAS (ácidos graxos não-esterificados) e apolipoproteínas A-I e B.

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, NEFAS e das apolipoproteínas A-I e B, as amostras foram armazenadas a -80°C até o momento das análises do tamanho e função antioxidante da HDL, índice ômega-3 e polimorfismo do gene da Apo A-I.

### **4.5.2 Marcadores do metabolismo lipídico e glicêmico**

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

Para a dosagem de NEFAS utilizou-se método espectrofotométrico e apolipoproteínas A-I e B foram utilizados métodos imunoturbidimétricos.

## **4.6 Determinação do perfil de ácidos graxos na membrana dos eritrócitos (índice ômega-3)**

Após separação do plasma (3000 rpm ou 1010 G, 15 min, 4°C), foi utilizado 500 uL de concentrado de hemácias (produto obtido da separação, por centrifugação, do sangue total do plasma e fina camada leucocitária) para a etapa de lise dos eritrócitos que se iniciou com a lavagem com tampão fosfato-salino (PBS) gelado (1:10; v/v, 15 min, 3000 rpm ou 1010 G), descartando o sobrenadante até que o pellet fique livre de hemoglobina. O pellet final dessa etapa foi colocado em banho-maria e exposto a ultrassom por 5 minutos.

O método modificado que foi utilizado para determinação dos ácidos graxos na membrana dos eritrócitos constitui de etapa de preparo da amostra e extração dos ácidos graxos, no qual foi adicionado 1 ml de Metanol/Clorofórmio (2:1), seguido de centrifugação por 20 min, a 20000 rpm (4500 G, aproximadamente). Essa etapa foi repetida 3 vezes, sendo os sobrenadantes que foram obtidos em cada lavagem reunidos e secos em fluxo contínuo de N<sub>2</sub> comum.

A etapa de esterificação foi iniciada com adição de 0,5 ml de Hexano HPLC, e 125 uL de Metóxido de sódio (0,5 M), seguida de sonicação por 20 min. Em seguida, foi adicionado 2,5 ml de solução de NaCl saturada, sendo a amostra mantida em repouso por 10 min. Após essa etapa, foi adicionado 1 mL de Hexano, seguido por agitação em vortex, durante 30 seg. O sobrenadante (fase hexânica) foi transferido para tubos de vidro. Essa etapa foi repetida 4 vezes, sendo todos os sobrenadantes reunidos e secos em fluxo de N<sub>2</sub>.

Após completa evaporação, os ácidos graxos esterificados foram ressuspensos em 0,25 ml de Hexano HPLC, sonicando durante 5 min, filtrado (Milipore; 0,22 µm) diretamente no vial e injetado no Cromatógrafo à Gás com detector de ionização de chama.

O perfil de ácidos graxos foi determinado em cromatógrafo a gás Shimadzu, CG-2010, equipado com uma coluna capilar DB-FFAP (15 m x 0,100 mm x 0,10 µm - J e W Scientific, Agilent Technologies). O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 0,27 mL/min, com vazão de 35 cm/s e pressão de 187,8 kPa. As taxas de fluxo de ar sintético, N<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> foram, respectivamente, 300, 30, 30 mL/min. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250 °C e 260 °C, respectivamente. A programação de temperaturas da coluna foi de 100 °C inicial, com retenção de 0,5 min, rampa de 25 °C/min a 195 °C, 3 °C/min a 205 °C, 8 °C/min a 230 °C, com retenção de 4

min, 50 °C/min a 245 °C, retendo por 0,5 min. A razão Split utilizada no injetor será de 1:150 e o tempo de corrida total foi de 15,56 min.

Como padrão externo utilizou-se uma mistura formada por 37 ésteres metil de ácidos graxos (FAME 37, código 47885, Sigma Chemical Co). O volume de injeção foi de 2 uL, em injetor automático AOC 20i. Os ácidos graxos foram identificados por meio da comparação dos tempos de retenção do padrão externo com as amostras. Foi utilizado também padrão interno methyl tricosanoate (C23:0, T9900, Sigma Chemical Co). Os resultados foram expressos como percentual total de ácidos graxos presentes na amostra (variável quantitativa).

#### **4.7 Análise das subfrações da HDL**

O tamanho da HDL e suas subfrações foram determinados através do sistema *Lipoprint System, Quantrimetrix®*. 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 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). As HDL grandes são maduras e funcionais, ricas em proteínas estruturais, como apoA-I, e possuem melhores atividades antioxidantes e capacidade de capturar e transportar colesterol, já as HDL pequenas são mais disfuncionais e imaturas, contendo menos proteínas e mais triglicerídeos em relação ao colesterol. A análise das 10 subfrações e seus agrupamentos vem como especificação de estudos anteriores que analisavam duas grandes e heterogêneas subfrações da HDL:

HDL<sub>2</sub> (partículas grandes) e HDL<sub>3</sub> (partículas pequenas) (ARNAO, V., 2019; ALGER, V., 1990; KOSTNER, G. M., 1985).

Nesse estudo foi proposta a razão de HDL 1-2/9-10 como uma outra forma de refletir a prevalência de HDL grandes ou pequenas nas amostras analisadas. Quanto maior for a razão proposta ou maior que 1, maior será a prevalência de HDL grandes (1 e 2) em relação às HDL pequenas (9 e 10) e quanto menor for a razão ou menor que 1, menor será a prevalência de HDL grande em relação às HDL pequenas.

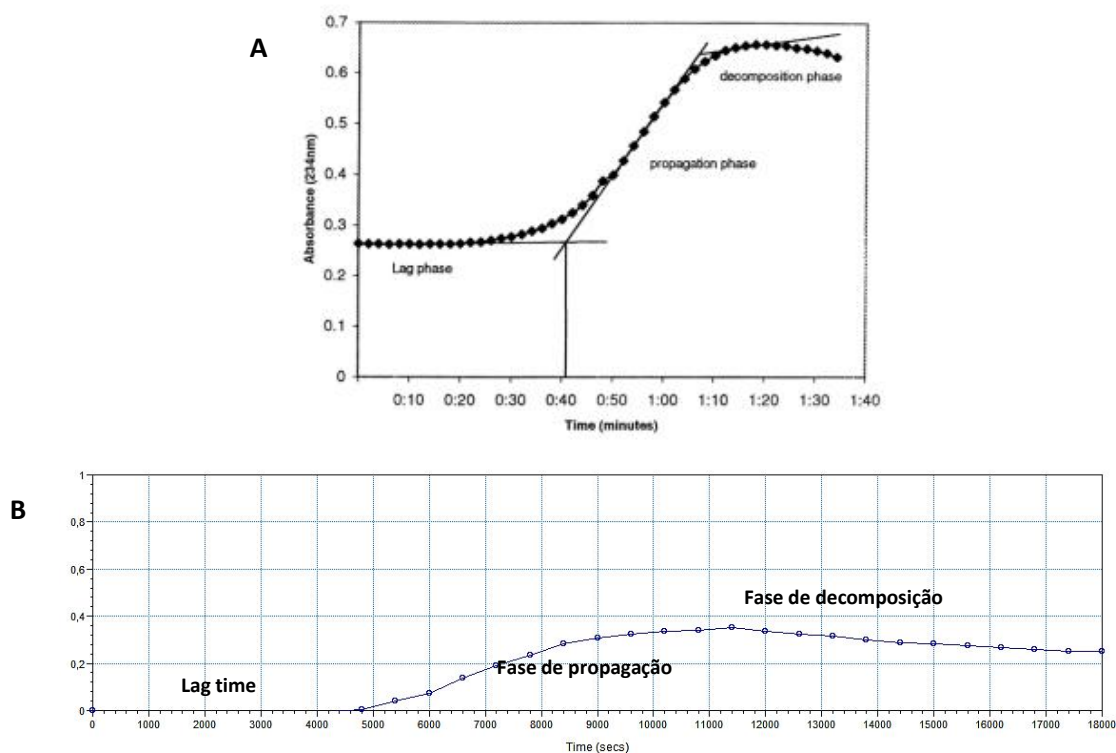
Todas essas análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Humana da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP-USP).

#### **4.8 Avaliação da função antioxidante da lipoproteína HDL**

A função 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.

A análise consiste em um teste de provocação, na qual mede-se o tempo em que as partículas HDL, ricas em fatores antioxidantes, impedem a oxidação das partículas LDL pelos íons cuprosos (Cu<sup>2+</sup>). Neste ensaio, procura-se obter uma curva com as seguintes características: uma fase inicial de resistência à oxidação (*Lag time*) no qual a absorvância se mantém relativamente constante, ou seja, onde ocorre proteção dos lipídeos pelos componentes antioxidantes da HDL, seguidas de uma fase de propagação em que ocorre aumento contínuo da absorvância devido à formação do dienos conjugados e finalmente a fase de estabilização e decomposição, onde a curva atinge um platô (Figura 7). Portanto, o *Lag time* é a medida do período em que houve resistência a oxidação e quanto maior o tempo de *Lag time*, maior é a proteção cardiovascular e menor é o risco de DCV.

**Figura 7.** Perfil característico da cinética de oxidação da LDL induzida por  $\text{CuSO}_4$



Fonte: (A) figura adaptada de Júnior, A.C.A.L. 2015; (B) próprio autor.

A LDL é isolada por ultracentrifugação de um conjunto (“pool”) de plasma humano proveniente de indivíduos normolipidêmicos de idade entre 25 e 35 anos. Tais partículas são dialisadas contra PBS com uma coluna Econo-Pac 10DG (Bio-Rad, Richmond, CA) e ajustada a concentração em  $40 \mu\text{g}$  de proteína por  $500 \mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}$  deionizada. As partículas de HDL contidas na amostra dos indivíduos e adicionadas no meio reacional devem, devido às suas propriedades antioxidantes, prevenir a oxidação da LDL.

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. As lipoproteínas não-HDL são precipitadas utilizando poliânions como sulfato de dextrano, heparina ou fosfotungstato, os quais reagem com grupos carregados positivamente nas

lipoproteínas, cátions bivalentes como o  $Mg^{2+}$  são adicionados ao meio reacional, facilitando a interação.

Misturou-se 100  $\mu$ L da amostra com 100  $\mu$ L do reagente precipitante ( $MgCl_2$ ) em um tubo eppendorff de 1,5 mL, sendo homogeneizado por 30 segundos com posterior centrifugação a 3500 rpm (1400 G, aproximadamente) por 15 minutos. Em seguida, foi retirado o sobrenadante o qual foi colocado em um novo tubo eppendorff de 500  $\mu$ L. Das amostras de HDL obtidas, foi retirado alíquotas para diluir com PBS (1:50). Essa diluição serviu para a dosagem de proteínas pelo método de Bradford (ZAIA, D. et al., 1998).

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  $\mu$ g/ $\mu$ L, preparando para um volume total de 1000  $\mu$ L, tendo como referência a concentração de proteínas obtida de cada amostra. Em seguida, preparou-se uma diluição de LDL isolada com PBS (0,083  $\mu$ g/ $\mu$ L). Com essas preparações, foi adicionado 100  $\mu$ L de HDL diluída em duplicata em poços de microplaca de poliestireno de 96 poços (300  $\mu$ L), acrescido de 150  $\mu$ L de LDL diluída. Homogeneizou-se a placa por 1 minuto e colocou na estufa por 15 minutos a 37 °C. Depois, foi adicionado 50  $\mu$ L de  $CuSO_4$  30  $\mu$ M em cada poço e, imediatamente, foi iniciado a leitura em espectrofotômetro de 10 em 10 minutos durante 5 horas com comprimento de onda de 235 nm.

Foram utilizados controle negativo (150  $\mu$ L de LDL + 150  $\mu$ L de PBS), controle positivo (150  $\mu$ L de LDL + 55  $\mu$ L de PBS + 45  $\mu$ L de TROLOX [alto poder antioxidante] 30  $\mu$ M + 50  $\mu$ L de  $CuSO_4$   $\mu$ M) e controle para a eficiência da solução de sulfato de cobre em duplicata (150  $\mu$ L LDL + 100  $\mu$ L PBS + 50  $\mu$ L  $CuSO_4$ ).

#### **4.9 Genotipagem do polimorfismo da Apo A1 (rs670)**

A genotipagem do polimorfismo rs670 do gene APOA1, foi realizada através do sistema TaqMan que é um tipo de ensaio utilizado em qPCR que utiliza sondas comerciais TaqMan (TaqMan SNP *genotyping*, *Applied Biosystems*) e, nesse estudo, termociclador (CFX 96TM *Real Time System*, BIORAD) para detectar e quantificar a presença do rs670.

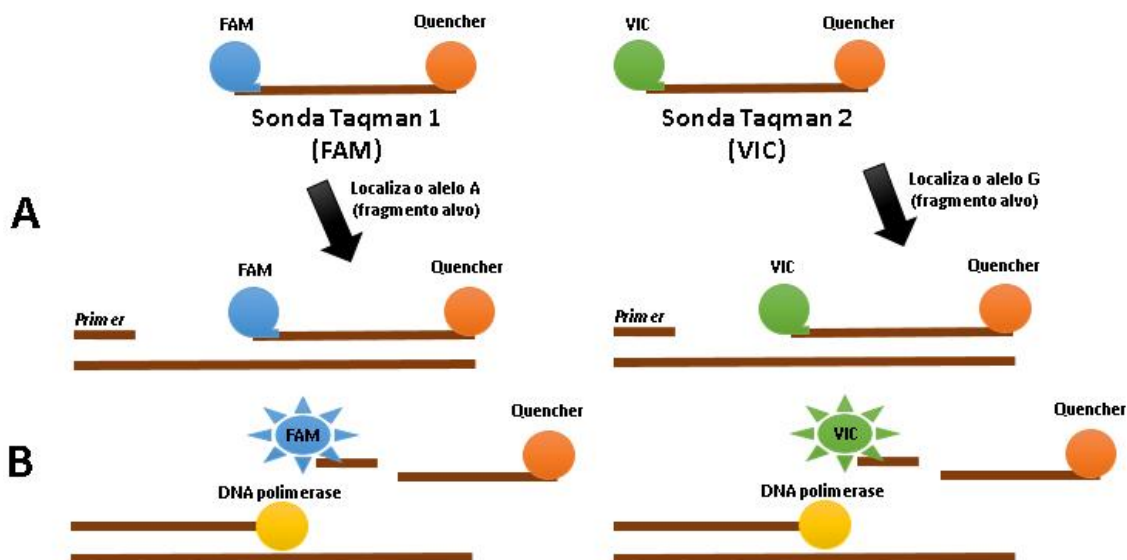
No sistema TaqMan, são usados dois primers (um forward e um reverse) que se ligam às sequências alvo complementares do DNA. Além disso, uma sonda TaqMan é utilizada que é uma molécula de oligonucleotídeo que contém um fluoróforo (um corante fluorescente) em uma extremidade e um quencher (um bloqueador de fluorescência) na outra extremidade. O fluoróforo e o quencher estão em proximidade física, o que faz com que o sinal de fluorescência do fluoróforo seja suprimido enquanto a sonda está intacta.

Durante a amplificação da PCR, a enzima DNA polimerase sintetiza novas cópias de DNA alvo. Quando a DNA polimerase encontra a sonda TaqMan, ela a degrada, separando o fluoróforo do quencher. Com o quencher afastado, o fluoróforo pode emitir luz fluorescente quando é excitado por uma fonte de luz específica.

A quantidade de luz fluorescente emitida é diretamente proporcional à quantidade de DNA alvo presente na amostra inicial. Esse sinal fluorescente é medido em tempo real por um detector óptico e é utilizado para gerar uma curva de amplificação, que representa o acúmulo de amplificados ao longo dos ciclos de amplificação da PCR. A partir da curva de amplificação, é possível determinar a quantidade inicial de material genético presente na amostra.

Para detectar o polimorfismo rs670, a sonda (GCTGGGAGGCTGATAAGCCCAGCCC[C/T]GGCCCTGTTGCTGCTCACTGGTCCT) que localiza o alelo G (alelo selvagem) estava marcada com o fluoróforo VIC (corante fluorescente de cor verde) e a sonda do alelo A (alelo polimorfo) estava marcada com o fluoróforo FAM (corante fluorescente de cor azul). Desta forma, à medida que os produtos da PCR iam se formando, os fluoróforos emitiram, proporcionalmente, um sinal fluorescente demonstrando assim a presença ou não dos alelos e possibilitando a genotipagem do polimorfismo (Figura 8).

**Figura 8.** Funcionamento do sistema Taqman



Legenda: A: Sondas Taqman são oligonucleotídeos de sequência específica ao fragmento alvo (alelo A e G), marcadas por corantes *reporter*, FAM ou VIC, que são agentes fluorescentes e sua fluorescência está inibida com a presença da molécula *Quencher* enquanto a sonda estiver intacta; B: Replicação com a ação da DNA polimerase que cliva a sonda TaqMan, ativando a fluorescência dos corantes *reporter* FAM e VIC.

Fonte: Próprio autor.

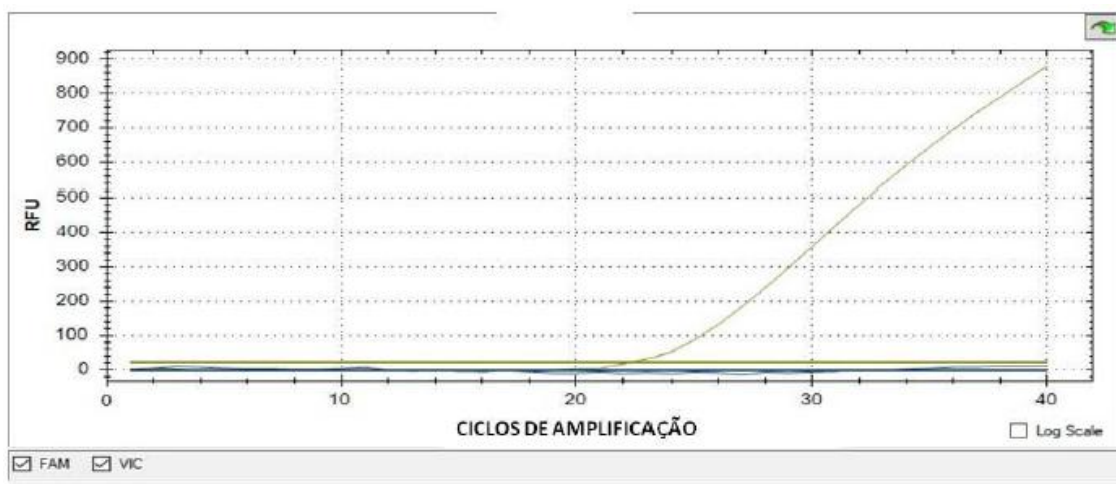
Para tanto, a extração do DNA genômico foi executada com uso do Kit PureLink™“Genomic DNA Mini Kit”, da Invitrogen/Thermo Fish Scientific (cat no. K1820-01, Carlsbad, CA, EUA). As etapas de extração, ligação, lavagem e eluição do DNA foram realizadas seguindo rigorosamente o protocolo proposto pelo fabricante.

As amostras de DNA foram extraídas de leucócitos da amostra de sangue total e sua concentração/pureza medidos através de espectrofotômetro, na aparelho Nanodrop (Qiagen). Para verificar a qualidade do DNA extraído, a relação entre a quantidade de DNA (medido a 260 nm) e proteínas (280 nm) nas amostras foi aferida. Amostras com valores dessa relação (razão de absorbâncias 280/260 nm) entre 1,7 e 2,0 foram consideradas aceitáveis para posterior genotipagem do polimorfismo abordado nesse estudo.



Para cada reação, foram utilizadas 5,0  $\mu\text{L}$  de TaqMan Universal PCR Master Mix, 2,75  $\mu\text{L}$  de água ultrapura, 0,25  $\mu\text{L}$  da sonda TaqMan e 2,0  $\mu\text{L}$  de DNA da amostra (com concentração de aproximadamente 20  $\text{ng}/\mu\text{L}$ ). O protocolo usado no termociclador para genotipagem foi: 1) 50°C por 2 minutos; 2) 95°C por 10 minutos; mais 40 ciclos de: 3) 95°C por 15 segundos e 4) 60°C por 1 minuto. As Figuras 9, 10 e 11 mostram as curvas características das reações dos fluoróforos VIC e FAM (SOUSA, E.L.H 2020).

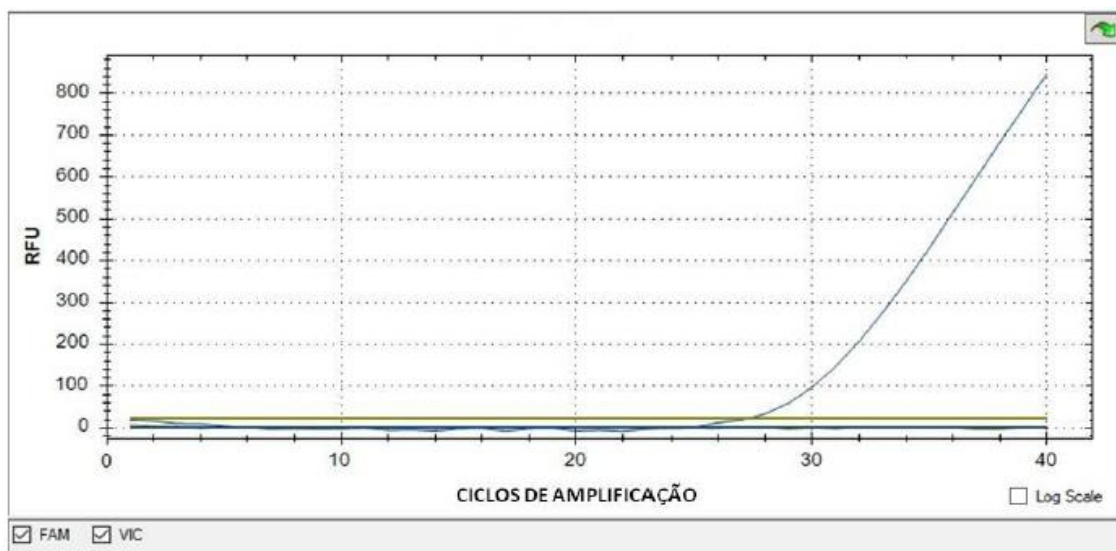
**Figura 9.** Padrão de homozigose na sonda marcada com o fluoróforo VIC pela técnica do qPCR.



Discriminação alélica por meio da utilização do sistema TaqMan® e amplificação pelo método de qPCR, correspondente ao sinal da sonda marcada com VIC (verde), genótipo GG do polimorfismo rs670. RFU = Unidade de fluorescência.

Fonte: figura adaptada de Sousa E.L.H. 2020.

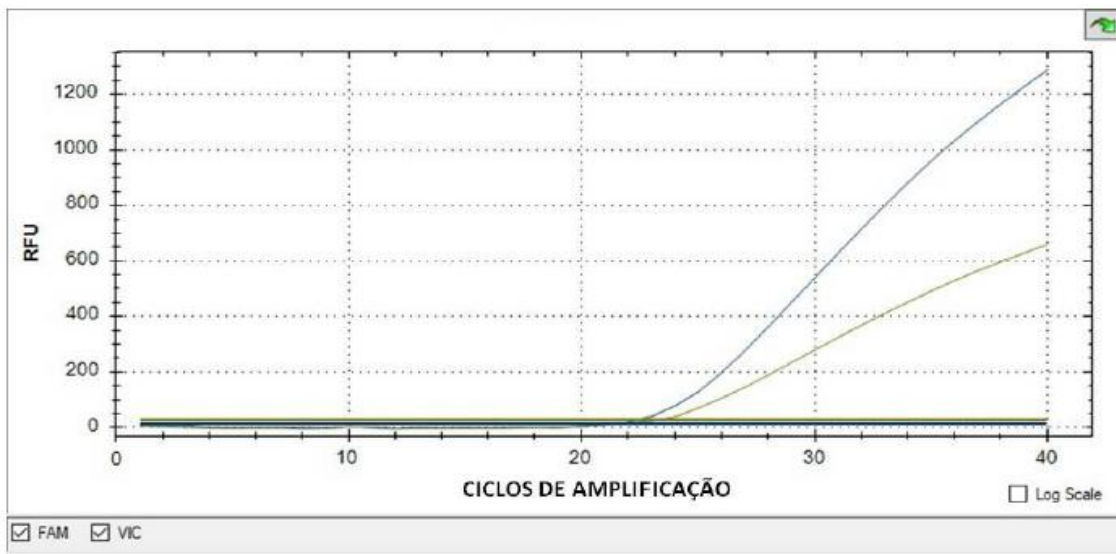
**Figura 10.** Padrão de homozigose na sonda marcada com o fluoróforo FAM pela técnica do qPCR.



Discriminação alélica por meio da utilização do sistema TaqMan® e amplificação pelo método de qPCR, correspondente ao sinal da sonda marcada com FAM (azul), genótipo AA do polimorfismo rs670.

Fonte: figura adaptada de Sousa E.L.H. 2020.

**Figura 11.** Padrão de heterozigose na sonda marcada com o fluoróforos VIC e FAM pela técnica do qPCR.



Discriminação alélica por meio da utilização do sistema TaqMan® e amplificação pelo método de qPCR, correspondente aos sinais das sondas marcadas com VIC (verde) e FAM (azul), genótipo GA do polimorfismo rs670.

Fonte: figura adaptada de Sousa E.L.H. 2020.

Na figura 12, a seguir, é informado, de forma resumida, todas as metodologias utilizadas no estudo .

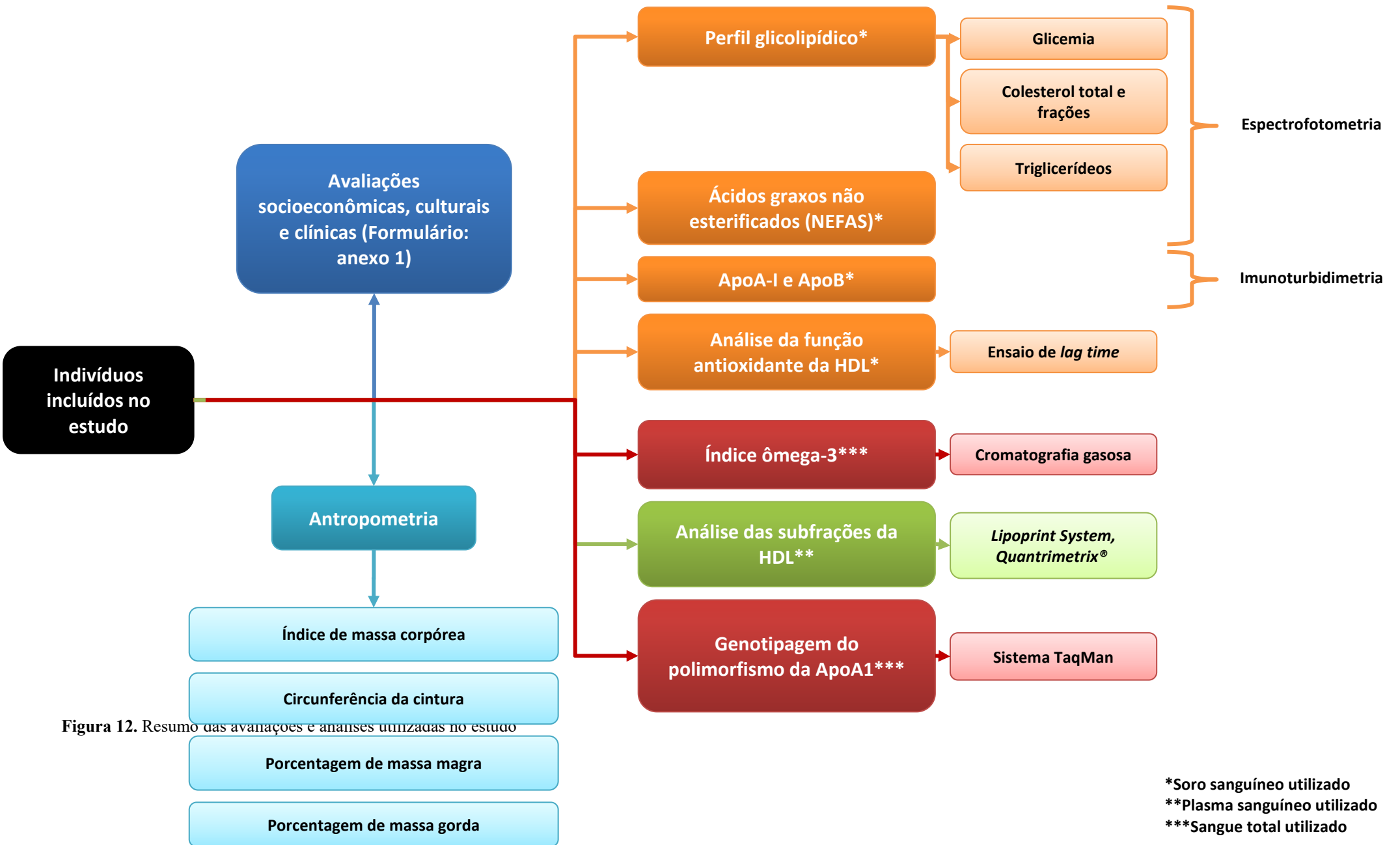


Figura 12. Resumo das avaliações e análises utilizadas no estudo

\*Soro sanguíneo utilizado  
 \*\*Plasma sanguíneo utilizado  
 \*\*\*Sangue total utilizado

#### 4.10 Análise estatística

Dados categóricos foram expressos como contagem absoluta e porcentagens, e comparados através do teste do qui-quadrado ou exato de Fisher, de acordo com as frequências esperadas. Os dados contínuos foram inicialmente avaliados quanto a distribuição dos dados. Para isso foi realizado o teste de normalidade do Shapiro-Wilk, e também feita a análise de histogramas e da homogeneidade de variâncias. Dados normais foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão e dados não normais como mediana e amplitude interquartil. Para comparações de dois grupos quanto a presença ou não do alelo A no polimorfismo da apoA1, foram usados os testes t de Student para dados paramétricos e o U de Mann-Whitney para dados não paramétricos.

Para avaliar a associação linear de dados quantitativos foi avaliada análises de correlação de Pearson, ajustadas para a presença ou não do alelo A no polimorfismo da apoA1. O coeficiente “r” de Pearson foi calculado, sendo considerados apenas quando a associação foi estatisticamente significativa. Já para dados não paramétricos, foi usada a análise de correlação de Spearman.

Modelos de regressão logística multivariada foram incorporados para avaliar a associação independente de variáveis de interesse com a presença do Alelo A do polimorfismo da Apo A1. A colinearidade entre variáveis contínuas selecionadas foi avaliada antes da inclusão nos modelos. Para os modelos multivariados, as variáveis de interesse (parâmetros antropométricos, perfil glicolipídico, capacidade antioxidante e tamanho da HDL) foram adicionadas e foi aplicado o método stepwise backward para definição do melhor modelo multivariado para explicação dos eventos dependentes. Esse método consiste na inclusão inicial de todas as variáveis selecionadas e posterior retirada de uma a uma de acordo com critério matemático, que no caso foi de  $p > 0,50$ , em cada modelo gerado no passo-a-passo, até a obtenção do modelo final, com as variáveis de maior importância para explicar os eventos dependentes. O Odds ratio com respectivos intervalos de confiança de 95% foram calculados para cada variável independente nos modelos. Todas as análises foram realizadas utilizando o SPSS versão 23.0 para Macintosh (IBM, Armonk, NY, USA).

#### **4.11 Aspectos éticos**

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com o número CAAE 44550015.0.0000.5054. A coleta de dados foi realizada somente após obtenção da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelos pacientes (Anexo 2). 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

### 5.1 Características sociodemográficas e clínicas no grupo total e de acordo com a presença do Alelo A

Os indivíduos do estudo foram a maioria do sexo feminino (59%) e com idade média de  $40 \pm 14$  anos. A maior parte era de etnia parda (53%), seguidos da branca (33%). Além disso, a maior parte do grupo era solteira (51%), com sobretudo escolaridade acima do nível médio, e apresentando renda predominante de 1 a 5 salários mínimos. A maioria dos participantes tinham risco cardiovascular (89%), sendo 54 (41%) com doença cardiovascular estabelecida, e 48 (37%) faziam uso de medicamentos (Tabela 1).

Ainda na tabela 1, o grupo total foi dividido de acordo com a presença de alelo A, e todas as variáveis foram analisadas para investigar se houve alguns parâmetros mais presentes em um dos grupos. Contudo, não houve associação entre os grupos, mostrando que nessa amostra todas as características sociodemográficas, doenças cardiovasculares e uso de medicamentos tinham apresentação semelhante em ambos os grupos (Tabela 1).

Em relação a distribuição dos alelos e dos genótipos, sendo G o alelo selvagem e A o alelo polimórfico, dos polimorfismos rs670 da ApoA I dos indivíduos incluídos no estudo [GG: 63 (80,77%); GA: 13 (16,67%); AA: 2 (2,56%)] observou-se que a presença do alelo A (19,23%) foi como o esperado conforme a distribuição na população do continente americano que é em torno de 21% da presença do alelo A e no âmbito global em torno de 19 %, de acordo com a frequência exposta pela fabricante da sonda comercial utilizada no estudo (Thermo Fisher Scientific).

**Tabela 1.** Características sociodemográficas, doenças cardiovasculares e uso de medicamentos no grupo total e de acordo com a presença do alelo A.

	<b>Grupo total</b>	<b>Sem Alelo A (n=63)</b>	<b>Com Alelo A (n=15)</b>	<b>p</b>
<b>Sexo, masculino</b>	32 (41)	27 (43)	8 (53)	0,463
<b>Sexo, feminino</b>	46 (59)	36 (57)	7 (47)	0,463
<b>Idade, anos</b>	40 ± 14	41 ± 16	39 ± 12	0,538
<b>Etnia</b>				0,187
Branco	43 (33,3)	26 (41,3)	4 (26,7)	
Negro	9 (7)	1 (1,6)	2 (13,3)	
Pardo	68 (52,7)	32 (50,8)	9 (60)	
Amarelo	8 (6,2)	3 (4,8)	0 (0)	
Indígena	1 (0,8)	1 (1,6)	0 (0)	
<b>Estado civil</b>				0,683
Solteiro	66 (50,8)	33 (52,4)	7 (46,7)	
Casado	45 (34,6)	20 (31,7)	7 (46,7)	
Viúvo	5 (3,8)	5 (7,9)	0 (0)	
Divorciado	13 (10)	4 (6,3)	1 (6,7)	
Outros	1 (0,8)	1 (1,6)	0 (0)	
<b>Escolaridade</b>				0,901
Ensino Fundamental Incompleto	9 (6,9)	5 (7,9)	1 (6,7)	
Ensino fundamental completo	6 (4,6)	2 (3,2)	0 (0)	
Ensino Médio Incompleto	9 (6,9)	8 (12,7)	1 (6,7)	
Ensino Médio Completo	45 (34,6)	22 (34,9)	7 (46,7)	
Ensino Superior Incompleto	24 (18,5)	10 (15,9)	3 (20)	
Ensino Superior Completo	36 (27,7)	16 (25,4)	3 (20)	
<b>Renda</b>				0,965
Menos que 1 salário mínimo	27 (20,8)	11 (17,5)	3 (20)	
Entre 1 e 5 salário mínimo	91 (70)	47 (74,6)	11 (73,3)	
Entre 6 e 10 salário mínimo	10 (7,7)	5 (7,9)	1 (6,7)	
Mais que 10 salário mínimo	2 (1,5)	0 (0)	0 (0)	
<b>Doenças cardiovasculares</b>	54 (41,5)	31 (49,2)	7 (46,7)	0,470
<b>Fatores de risco cardiovasculares</b>	115 (89,1)	59 (93,7)	13 (86,7)	0,362
<b>Uso de medicamentos</b>	48 (36,9)	27 (42,9)	3 (20)	0,102

Dados contínuos expressos como média ± desvio padrão e comparados com o teste t de Student. Dados categóricos expressos como contagem absoluta e porcentagens entre parêntesis e comparados com teste do qui-quadrado.

## 5.2 Perfil antropométrico e glicolipídico e a presença do Alelo A.

Foram investigados diversos parâmetros antropométricos e o perfil glicolipídico e sua associação com a presença de Alelo A.

Não foi observada associação entre a presença do alelo A e parâmetros antropométricos, incluindo o IMC, CC, percentual de massa magra e massa gorda. Participantes com alelo A também não apresentaram alterações em relação a avaliação do perfil glicolipídico laboratorial (Tabela 2).

**Tabela 2.** Avaliação da associação entre o perfil antropométrico e perfil lipídico com a presença do Alelo A.

	Polimorfismo da ApoA		p
	Sem Alelo A (n=63)	Com Alelo A (n=15)	
<b>Perfil antropométrico</b>			
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	27,76 ± 5,00	28,39 ± 8,64	0,709
CC (cm)	88,1 ± 13,23	82,8 ± 28,75	0,285
MG (%)	29,9 ± 6,18	31,6667 ± 6,55	0,334
MM (%)	70,0476 ± 6,16	68,3333 ± 6,55	0,342
<b>Perfil glicolipídico</b>			
Glicose (mg/dL)	107,4921 ± 49,74	97,0667 ± 24,49	0,434
Colesterol total (mg/dL)	197,16 ± 48,16	204,1333 ± 52,83	0,622
c-HDL (mg/dL)	50,4921 ± 18,39	49,4667 ± 21,84	0,852
c-LDL (mg/dL)	114,7931 ± 41,21	111,0769 ± 29,65	0,76
c-VLDL (mg/dL)	25,5 (15 - 42)	27 (21 - 45)	0,433
Triglicerídeos (mg/dL)	133 (75 - 233)	215 (106 - 266)	0,402
ApoA_ (mg/dL)	135,09 ± 39,96	133,14 ± 69,93	0,885
ApoB_ (mg/dL)	104,24 ± 31,11	107,87 ± 25,42	0,676
NEFAS_ (mmol/L)	0,99 ± 0,36	1 ± 0,25	0,935
c-não-HDL (mg/dL)	146,67 ± 45,92	154,67 ± 50,40	0,553
Índice_ApoB/ApoA	0,82 ± 0,32	0,93 ± 0,35	0,256
Índice_ômega-3 (%)	4,58 ± 1,99	5,21 ± 2,39	0,338

Dados contínuos expressos como média±desvio padrão ou como mediana e amplitude interquartil entre parêntesis. Foi usado o teste t de Student ou Mann-Whitney para comparações entre os grupos de acordo com a distribuição dos dados. IMC=Índice de massa corpórea; CC=Circunferência da Cintura; MG=Massa gorda; MM=Massa magra; NEFAS=ácidos graxos não esterificados



### 5.3 Características das partículas de HDL de acordo com a presença do alelo A.

Com relação as características das partículas de HDL, a presença do Alelo A pode não ter um efeito grande para influenciar suas características. Entre elas, o tamanho e a função antioxidante da HDL não sofreram influencia quanto a presença do alelo A (Tabela 3).

**Tabela 3.** Características das partículas de colesterol HDL de acordo com a presença do alelo A.

	Polimorfismo da ApoA		p
	Sem Alelo A (n=63)	Com Alelo A (n=15)	
Razão HDL 1-2/9-10	0,61 (0,29 - 1,61)	0,54 (0,35 - 1,04)	0,753
Grande (%)	23 (15 - 33)	17,5 (14 - 26)	0,691
Intermediário (%)	40,8837 ± 6,8564	43,75 ± 7,5091	0,215
Pequeno (%)	35,2558 ± 14,8486	32,8333 ± 10,7012	0,601
<i>Lag Time</i> HDL (min)	77,59 ± 10,97	83,61 ± 22,97	0,141
HDL-1 (%)	5,9 (2,8 - 10,7)	6,4 (4,6 - 11,6)	0,469
HDL-2 (%)	9,6 (4,6 - 13,3)	6,5 (5,4 - 10,6)	0,802
HDL-3 (%)	7,5 ± 3,6	6,6 ± 3,2	0,451
HDL-4 (%)	9 ± 3	8 ± 1,8	0,292
HDL-5 (%)	8,6 ± 2,2	9,3 ± 2	0,285
HDL-6 (%)	15,9 ± 3,7	18,4 ± 5,1	0,060
HDL-7 (%)	7,5 ± 2,1	7,9 ± 1,8	0,521
HDL-8 (%)	9,7 ± 2,9	9,9 ± 2,4	0,815
HDL-9 (%)	8 ± 2,3	7,7 ± 2,2	0,705
HDL-10 (%)	14,1 (8,9 - 23,1)	13,8 (9,1 - 21,6)	0,552

Dados contínuos expressos como média±desvio padrão ou como mediana e amplitude interquartil entre parêntesis. Foi usado o teste t de Student ou Mann-Whitney para comparações entre os grupos de acordo com a distribuição dos dados.

Na avaliação da associação das variáveis quantitativas com os níveis de colesterol HDL, foi observado que tanto no grupo sem alelo A como no grupo com Alelo A, a razão de HDL 1-2/HDL 9-10 (razão entre HDLs grande e maduras, e HDLs pequenas e imaturas) correlacionou-se positivamente com a concentração de c-HDL no sangue, sobretudo no grupo com alelo A ( $\rho=0,827$  ;  $p=0,001$ ). Além disso, em ambos os grupos o c-HDL correlacionou-se negativamente com o índice ApoB/ApoA. Apenas

no grupo sem alelo A, a glicemia, bem como triglicérides, IMC e CC correlacionaram-se negativamente com as concentrações de c-HDL (Tabela 4).

**Tabela 4.** Análise de correlação de Pearson avaliando a correlação entre a concentração de HDL com parâmetros de seu metabolismo, glicolipídicos e antropométricos de acordo com a presença ou não do alelo A.

	Polimorfismo da ApoA			
	Sem Alelo A (n=63)		Com Alelo A (n=15)	
	c-HDL (mg/dL)		c-HDL (mg/dL)	
	rho	p	rho	P
Razão HDL 1-2/9-10	<b>0,433*</b>	<b>0,004</b>	<b>0,827*</b>	<b>0,001</b>
Lag_Time_HDL (min)	0,117	0,367	-0,103	0,715
Índice_omega_3 (%)	0,228	0,128	-0,234	0,442
NEFAS_(mmol/L)	-0,032	0,803	0,468	0,079
c-não-HDL (mg/dL)	-0,075	0,559	-0,103	0,716
Índice_ApoB/ApoA	<b>-0,564*</b>	<b>0,000</b>	<b>-0,581*</b>	<b>0,023</b>
Glicemia (mg/dL)	<b>-0,304*</b>	<b>0,016</b>	-0,198	0,480
Triglicérides (mg/dL)	<b>-0,324*</b>	<b>0,010</b>	-0,358	0,190
MG (%)	-0,016	0,898	-0,078	0,783
MM (%)	0,021	0,873	0,078	0,783
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	<b>-0,439*</b>	<b>0,000</b>	-0,362	0,184
CC (cm)	<b>-0,516*</b>	<b>0,000</b>	-0,116	0,681

\*Correlação estatisticamente significativa;  $p < 0,05$ . #Rho de Spearman. NEFAS=ácidos graxos não esterificados; MG=massa gorda; MM=massa gra; IMC=índice de massa corpórea; CC=circunferência da cintura

Na análise de correlação entre o tamanho e ação antioxidante da HDL com fatores antropométricos e glicolipídicos na presença do alelo A, como observado na tabela 5, observa-se que não houve correlação entre o *lag time* da HDL, na presença do alelo A, com fatores antropométricos e glicolipídicos. Em contrapartida, considerando a razão HDL 1-2/9-10, ou seja, concentração de partículas grandes dividido por partículas pequenas observa-se correlações negativas, na presença do alelo A, entre a razão de HDL 1-2/9-10 com índice de ApoB/ApoA e concentração de glicose, ou seja, quanto maior a glicemia e razão ApoB/ApoA, menor será a razão HDL 1-2/9-10. Ou vindo de forma contrária, na presença de alelo A, a maior prevalência de HDLs 1 e 2 (grandes) em relação a HDL 9 e 10 (pequenas) mostrou associação na diminuição da glicemia e índice ApoB/ApoA.

**Tabela 5.** Análise de correlação de Pearson avaliando o tamanho e a ação antioxidante da HDL com parâmetros glicolipídicos e antropométricos de acordo com a presença do alelo A.

	Com Alelo A (n=15)			
	Lag Time, HDL		Razão HDL 1-2/9-10	
	rho	p	rho	p
<b>Parâmetros antropométricos</b>				
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	-0,106	0,706	-0,378	0,226
CC (cm)	-0,079	0,780	-0,406	0,190
MG (%)	-0,214	0,444	-0,205	0,523
MM (%)	0,214	0,444	0,205	0,523
<b>Perfil glicolipídicos</b>				
Glicose (mg/dL)	-0,195	0,486	<b>-0,576*</b>	<b>0,05</b>
Colesterol total (mg/dL)	-0,253	0,363	0,263	0,409
c-HDL (mg/dL)	-0,265	0,339	0,509	0,091
c-LDL (mg/dL)	-0,211	0,489	-0,200	0,580
c-VLDL (mg/dL)	-0,117	0,703	-0,418	0,229
Triglicerídeos (mg/dL)	-0,192	0,493	-0,192	0,493
ApoA_ (mg/dL)	0,199	0,476	0,49	0,106
ApoB_ (mg/dL)	-0,127	0,651	-0,154	0,633
NEFAS_ (mmol/L)	-0,205	0,463	-0,112	0,729
c-não-HDL (mg/dL)	-0,279	0,314	-0,294	0,354
Índice_ApoB/ApoA	-0,059	0,835	<b>-0,629*</b>	<b>0,028</b>
Índice_ômega-3 (%)	-0,329	0,272	-0,430	0,214

\*Correlação estatisticamente significativa;  $p < 0,05$ . #Rho de Spearman. NEFAS=ácidos graxos não esterificados; MG=massa gorda; MM=massa magra; IMC=índice de massa corpórea; CC=circunferência da cintura

Por fim, foi feita uma análise de regressão multivariada, focando no impacto do polimorfismo da ApoA1 sobre o tamanho e ação antioxidante da HDL, ajustando com fatores confundidores e outros possíveis fatores relacionados com a presença do alelo A do polimorfismo da Apo A1, sobretudo, para investigar se o tamanho e a ação antioxidante da HDL estariam associados de maneira independente com a presença do alelo A (tabela 6).

**Tabela 6.** Regressão logística avaliando a associação de fatores antropométricos, glicolipídicos e da presença do alelo A com o tamanho e a ação antioxidante da HDL.

	Presença do Alelo A			
	Modelo inicial		Modelo final	
	Odds ratio (IC 95%)	p	Odds ratio (IC 95%)	p
<b>Sexo (masculino)</b>	21,133 (0,704 - 633,95)	0,079	20,132 (0,413 - 981,364)	0,13
<b>Lag_Time_HDL</b>	1,325 (0,282 - 6,225)	0,721	-	-
<b>Razão HDL 1-2/9-10</b>	3,185 (0,942 - 10,769)	0,062	3,079 (1,044 - 9,08)	<b>0,042</b>
<b>HDL-6 (%)</b>	1 (0,701 - 1,427)	0,999	-	-
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	0,951 (0,71 - 1,274)	0,735	-	-
<b>CC (cm)</b>	0,956 (0,868 - 1,054)	0,367	0,944 (0,84 - 1,062)	0,34
<b>MG (%)</b>	1,38 (1,019 - 1,87)	0,038	1,374 (0,992 - 1,901)	0,056
<b>Glicose (mg/dL)</b>	0,984 (0,947 - 1,022)	0,403	0,982 (0,945 - 1,02)	0,35
<b>c-HDL (mg/dL)</b>	1,032 (0,94 - 1,134)	0,509	1,037 (0,95 - 1,132)	0,414
<b>c-LDL(mg/dL)</b>	1,042 (0,965 - 1,126)	0,29	1,038 (0,968 - 1,114)	0,293
<b>Triglicerídeos (mg/dL)</b>	1,019 (0,995 - 1,043)	0,127	1,019 (0,996 - 1,042)	0,103
<b>ApoA (mg/dL)</b>	1,003 (0,971 - 1,036)	0,852	-	-
<b>ApoB (mg/dL)</b>	0,922 (0,826 - 1,028)	0,141	0,924 (0,828 - 1,032)	0,161
<b>Índice Apob/Apoa</b>	66,357 (0,108 - 40689,15)	0,2	55,498 (0,273 - 11274,895)	0,139

Usado método stepwise com backward para obtenção do modelo final. IC=intervalo de confiança; MG=massa gorda; IMC=índice de massa corpórea; CC=circunferência da cintura

Foi observado que, após o ajuste multivariado (modelo final mostrado na tabela 5), a ação antioxidante da HDL (aqui representada pelo parâmetro *lag time*) não apresentou uma associação independente com a presença do alelo A. Entretanto, em um cenário, no modelo multivariado, são incluídas variáveis do perfil glicolipídico (concentrações de glicose, c-HDL, c-LDL, triglicerídeos, ApoB e índice de ApoB/ApoA) e antropométrico (circunferência da cintura e porcentagem de massa gorda), sendo observado que a razão HDL 1-2/HDL 9-10 passa a ter uma associação independente com a presença do alelo A.

## 6. DISCUSSÃO

Dentre as principais doenças que causam morte no mundo, vê-se que a doença cardiovascular (DCV) é a principal e que permaneceu por muitos anos, analisando o cenário entre os anos 2000 a 2019, segundo a OMS. Apesar do número de mortes ter caído, nos últimos anos, nos países desenvolvidos, há uma grande incidência de DCVs nos países de baixa e média renda, devido à falta de ações e medidas focadas em prevenção, diagnóstico e tratamentos eficazes para a doença cardíaca. E, além do prejuízo à saúde da população, essas doenças causam um grande impacto negativo no nível socioeconômico, focando, por exemplo, nos altos gastos em tratamentos medicamentosos. Por isso há importância em tomar medidas prioritárias em relação às melhorias no diagnóstico precoce e investigação dos fatores de risco associados, sejam eles modificáveis ou não, ao desenvolvimento de DCVs (ROTH, 2020).

Dentre os fatores de risco modificáveis estão a hipertensão, obesidade, dislipidemia, diabetes, e os não-modificáveis estão a genética, idade e gênero, onde todos esses são expostos neste estudo, focando na dislipidemia e, de forma específica, nas disfunções da lipoproteína de alta densidade, pois é a anormalidade lipoprotéica mais prevalente em pacientes com doenças cardíacas (BERTOLINI, 2003).

Neste estudo, relacionando fatores de risco modificáveis e não-modificáveis, analisamos o impacto da variante rs670 do gene Apo A1 sobre o tamanho e a ação antioxidante da HDL, levando em conta outros fatores que se relacionam com o polimorfismo estudado, como parâmetros glicolipídicos e antropométricos (IZAOLA, 2020; BOES, 2009, RAMEZANI-JOLFAIE, 2020).

Analisando os dados, foi observado que não houve associação entre a presença de alelo A com o tamanho das partículas de HDL em análise univariada. Contudo, após o ajuste multivariado, com a adição de variáveis do perfil glicolipídico e antropométrico, foi observado que houve associação independente entre o tamanho das partículas de HDL (razão HDL 1-2/HDL 9-10) com a presença do alelo A. Com isso, hipotetiza-se que a presença do alelo A pode ser um fator importante para determinar a prevalência de subfrações de HDL grandes, impactando de maneira positiva em casos de alterações do perfil glicolipídico e antropométrico.

Foi observado que, de maneira isolada, desconsiderando a influência do perfil glicolipídico e antropométricos, o rs670 não parece influenciar no tamanho das

partículas de HDL, mas ao considerar alterações no perfil glicolipídico e antropométrico na análise de regressão multivariada, a presença do alelo A do rs670 parece ter influencia importante em um tamanho das partículas HDL.

Apesar de não haver estudos que associem polimorfismos relacionados à HDL com a determinação de possíveis alterações das subfrações da HDL (IZAOLA, 2020; DE LUIS, 2018), observa-se que em alguns estudos recentes fala-se do rs670 e sua relação com HDL (concentração de c-HDL e Apo A1) ou outros fatores relacionados com o metabolismo lipoprotéico que impactam nas funções da HDL, já mostrando características protetoras da presença do alelo A em indivíduos, assim como mostrado em nossos resultados ao observar a prevalência de HDLs grandes em indivíduos com alelo A mesmo em alterações de perfil glicolipídico ou antropométrico. De Luis, em 2018, já falava em portadores do alelo A terem maiores concentrações de Apo A1 e c-HDL e menor adiposidade, assim como menor IMC, CC e %MG, comparando com não portadores do alelo A. Ainda, mostrava que o rs670 tinha um efeito protetor sobre a responsividade plasmática do c-HDL a mudanças da gordura dietética em normolipidêmicos. Outros estudos confirmam a associação da presença do alelo A com concentrações de c-HDL e Apo A1 aumentadas, além de mostrar que o alelo A protege na associação da ingestão de açúcares a um menor risco de síndrome metabólica (HOSSEINI-ESFAHANI, 2017; IZAOLA, 2020; RAMEZANI-JOLFAIE, 2020).

Olhando por outro lado, a presença do alelo G trás uma maior propensão ao desenvolvimento de dislipidemias, além de trazer 1,46 vezes maior riscos de dislipidemia por concentrações de c-HDL baixo (SUPAJAREE, 2022; WANG, 2018). Mas, há estudos que mostram alguns dados controversos apresentando associação da presença do alelo A com risco aumentado de AVC isquêmico e síndrome metabólica (WANG, 2017; WU, 2016).

Indivíduos com a variante alélica A mostraram ter uma associação mais forte ( $\rho=0,827$  ;  $p=0,001$ ) entre maiores concentração de c-HDL e o aumento do percentual de HDL grande em relação às HDL pequenas (Razão HDL 1-2/HDL 9-10). Com isso, infere-se que, dois indivíduos que tenham a mesma concentração de c-HDL, mas que um tenha a presença do alelo A e o outro não, o indivíduo com alelo A terá, comparativa e provavelmente, maior prevalência de HDL grandes. E isso leva a refletir que portadores do alelo A, provavelmente, tenham um melhor impacto na produção e

maturação das partículas de HDL, melhorando possíveis funções relacionadas como, interação da Apo A1 com receptores e transportadores como ABCA1, ABCG1 e SR-B1 ou ativação de LCAT, os quais são importantes processos para a estrutura/composição da partícula HDL, prevalecendo, assim, HDL grandes em relação à pequenas (CHO, 2022; FEINGOLD, 2022).

Os indivíduos sem o alelo A tiveram correlação negativa entre a concentração de c-HDL com a glicemia, concentração de triglicerídeos, índice de massa corpórea e circunferência da cintura. E esta correlação torna-se fraca quando há a presença do alelo A, não associando estados de sobrepeso, diabetes e dislipidemias com a diminuição da concentração de c-HDL.

Alguns estudos demonstram a relação da diminuição da concentração de c-HDL em indivíduos com glicemia aumentada, concentração de triglicerídeos elevada e alterações em medidas antropométricas (circunferência da cintura, índice de massa corpórea, etc.), classificando os indivíduos como diabéticos, hipertrigliceridêmicos, com algum grau de obesidade e com síndrome metabólica. Em indivíduos com algum grau de obesidade e/ou diabéticos observa-se a presença da resistência à insulina e isso prejudica em alguns funções essenciais desse hormônio como, por exemplo, a participação da síntese e transporte de colesterol e lipoproteínas, causando, comumente, a diminuição da concentração de c-HDL, além de que o aumento da glicose no sangue ocasiona o aumento do processo de glicação de proteínas, inclusive, de proteínas carregadas pelas partículas de lipoproteínas, ocasionando deficiência de funções, por exemplo, da lipoproteína de alta densidade (ARNAO, 2019; CHO, 2022). E a hipertrigliceridemia, focando no metabolismo da HDL, trás a incidência de partículas de HDLs pequenas e disfuncionais, devido ao aumento de transferência de triglicerídeos, via CETP, de lipoproteínas que tem Apo B, em troca de colesterol esterificado presente nas HDLs. A Apo A1, por exemplo, dissocia-se mais facilmente em HDLs pequenas (FEINGOLD, 2022), e esse fato é demonstrado em nossos estudos anteriores, onde a hipertrigliceridemia promove a disfunção da HDL, contribuindo no desenvolvimento de doenças cardiovasculares (MENESES, 2022; ver Anexo 3). Entretanto, como mostrado nesse estudo, os estados de hiperglicemia, hipertrigliceridemia e de obesidade deixam de ter correlação com a diminuição da concentração de c-HDL em indivíduos com o alelo A do rs670.



Essa característica protetora, supracitada, já não se mostra quando correlacionamos a razão de HDL 1-2/9-10 com glicemia e o índice de ApoB/ApoA em indivíduos com alelo A, pois neste grupo observa-se que um aumento na concentração de glicose no sangue e/ou um aumento no índice de ApoB/ApoA associam-se com a diminuição da razão de HDL 1-2/9-10. Esse resultado demonstra que em indivíduos com alelo A e hiperglicêmicos, apesar de não haver correlação na diminuição do-HDL, como discutido anteriormente, pode prejudicar na funcionalidade da HDL, focando na diminuição das partículas de HDL. O aumento da população de HDLs pequenas pode ser devido ao aumento do processo de glicação de proteínas transportadas pela HDL, como as que favorecem às características antioxidantes e anti-inflamatórias e, principalmente, às proteínas que interagem com transportadores de colesterol, reduzindo assim sua eficiência na remoção de colesterol das células, além de prejudicar no amadurecimento da própria HDL, diminuindo assim a prevalência de HDLs grande e maduras (CHO, 2022).

E, quando observa-se um aumento do índice de ApoB/ApoA, ou seja, quando há um aumento da concentração de Apo B e das lipoproteínas de baixa densidade (LDL e VLDL) em relação à Apo A-I e HDL, ocorre um desequilíbrio no metabolismo lipídico, prejudicando a funcionalidade da HDL, pois o aumento na concentração de Apo B reflete a elevação de lipoproteínas de baixa densidade e suas trocas de triglicerídeos por colesterol esterificado via CETP, fazendo com que haja um aumento na prevalência de HDLs pobre em ésteres de colesterol, ou seja, partículas de HDLs pequenas e imaturas, além de que o aumento de ApoB em relação a ApoA associa-se a uma redução na capacidade da HDL de proteger a LDL contra a oxidação, que contribui para a formação de placas ateroscleróticas, contribuindo para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (FEINGOLD, 2022).

Apesar do aumento da glicemia e índice de ApoB/ApoA, como discutido anteriormente, contribuírem para a prevalência de HDLs pequenas e disfuncionais em indivíduos com alelo A, podendo prejudicar, também, a ação antioxidante da HDL, esta não mostrou correlação significativa em nosso estudo, ao analisar o lag time da HDL (quantidade de tempo em que a HDL impede a oxidação da LDL, quando produz dienos conjugados, por um agente oxidante) e sua associação com concentração de glicose no sangue e índice de ApoB/ApoA, e em outros parâmetros antropométricos e lipídicos a

nalizados neste estudo, em indivíduos com alelo A. Fato semelhante foi mostrado no estudo do De Sousa (2020), onde não foi encontrado diferença significativa do lagtime da HDL entre os genótipos do rs670, tanto em universitários brasileiros como em africanos. Mas nesse mesmo estudo foi demonstrado diferença significativa no lagtime estudando o rs693, onde o lagtime foi menor entre os universitários africanos portadores do alelo T. E, por último, outro estudo mostra a influência de polimorfismo genético da Apo A2, por exemplo, no estresse oxidativo em paciente com diabetes tipo 2, mostrando que o alelo T, do polimorfismo estudado, seria um fator protetor para estresse oxidativo em paciente com diabetes tipo 2, mas que a obesidade seria um estado inibitório para essa proteção (KOOHDANI, 2015). Esses fatos demonstram a importância de estudos multifatoriais, onde associem características ambientais, fenotípicas e genóticas, e estes mostrarão o quanto vai diferenciar para cada indivíduo um efeito de uma fisiopatologia, uma intervenção medicamentosa ou uma mudança na educação alimentar e física.

Nesse estudo foi aprofundado a ideia de que não somente a concentração de c-HDL alta e isolada é um fator que leva a proteção contra a incidência de doenças cardiovasculares e, sim, que outros fatores como a genética, outras lipoproteínas e proteínas relacionadas ao metabolismo lipídico devem ser considerados e essa preocupação é mencionada em estudos como o de Leança e colaboradores (2010) que fala sobre os erros e acertos da relação entre HDL e doenças cardiovasculares, exemplificando o insucesso da terapêutica com Torcetrapib, fármaco voltado para o aumento substancial da concentração de c-HDL, e que constatou-se, de forma não esperada, o aumento da morbidade cardiovascular e mortalidade (BARTER, 2007). Por isso, a importância de estudar além da concentração de lipídeos carregados pela lipoproteína de alta densidade (c-HDL) como fator de risco cardiovascular e aprofundar em fatores associados como a apo A1 e outras apolipoproteínas, além da estrutura, função, diferenças populacionais da HDL e fatores genéticos relacionados que, até então, estão com usos limitados em meios acadêmicos devido a desfechos cardiovasculares incompletamente estabelecidos.

A associação entre a presença de polimorfismo do gene da Apo A1 com fatores qualitativos das partículas de HDL (tamanho e função antioxidante) é algo inovador em relação a outros estudos que tiveram como objetivo analisar a frequência desse mesmo

polimorfismo e sua associação com possíveis alterações do perfil glicolipídico, antropométricos, observando possíveis variabilidades em respostas dietéticas (IZAOLA, 2020; FLORES, M.F. 2006; RAMEZANI-JOLFAIE, 2020). E, em outros estudos houve foco, também, em outros polimorfismos, como dos genes dos receptores ABCA1, LPL, LCAT e outros, mostrando a associação com a concentração de c-HDL e outros parâmetros do perfil glicolipídico, com consequente impacto em doenças cardiovasculares (BOES, 2009; KLOS; KULLO, 2007). E, nesse estudo, foi escolhido o gene da Apo A1, pois essa proteína é o principal constituinte da HDL (70%) e é essencial para o reconhecimento e interação pelos receptor ABCA1, ABCG1, SR-B1 nas células dos tecidos periféricos para o efluxo de colesterol, além de ser importante para ativação da enzima LCAT no processo de esterificação de colesterol livre.

Muitos são os estudos que analisam polimorfismos do gene da Apo A1. Neles são expostas pesquisas sobre as frequências dos polimorfismos em uma certa população (AL-YAHYAEE, 2004; MA, 2005); a associação com concentrações de apo B e A1, colesterol total, c-LDL e glicose (LARSON, 2002; DE FRANÇA, 2005; COHEN, 2004; ZAMBON, 2006; BAIROVA, 2015; LIAO, 2015); associação com doenças cardiovasculares (MANSUR, 2000; LIAO, 2015; KOBAYASHI, 1999). E, especificamente, o polimorfismo rs670, analisado neste estudo, observa-se que existe diferenças em sua relação com fatores associados a doenças cardiovasculares como, por exemplo, no estudo de De Sousa (2020) que demonstrou que a presença do alelo A esteve significativamente relacionada com a diminuição da concentração de c-HDL e apo A1, principalmente em indivíduos heterozigóticos. Já em outro estudo, homens sem a presença do alelo A apresentaram altas taxas de obesidade, redução da concentração de c-HDL e hiperglicemia (LUIS, 2019). E esses achados demonstram o impacto direto e indireto de polimorfismos genéticos voltados ao metabolismo lipídico no surgimento de fatores de risco de doenças cardiovasculares (CASILLAS-MUÑOZ, 2018).

Esse estudo mostrou a relação do rs670 com doenças cardiovasculares ao demonstrar que: a presença do alelo A exclui a associação da concentração de c-HDL com fatores de risco cardiovascular como IMC e glicemia elevados; índice de ApoB/ApoA e glicemia elevados estão associados com a redução da razão de HDL 1-2/9-10 em indivíduos com alelo A; e, a razão de HDL 1-2/9-10 teve associação

independente com a presença do alelo A, mesmo em possíveis alterações de fatores de risco cardiovascular como c-LDL, índice ApoB/ApoA e glicose (ROTH, 2020).

O presente estudo teve algumas limitações. Dentre elas foi o tamanho amostral, onde o grupo com alelo A obteve pequeno tamanho amostral em relação ao grupo sem alelo A. Além de não ter sido analisado outros polimorfismos relacionados ao metabolismo da HDL, sendo uma importante sugestão para futuros estudos.

Apesar disso, o presente estudo mostrou ser inovador ao apresentar a influência do polimorfismo da Apo A1 sobre características funcionais da HDL, focando no tamanho das partículas, em meio a alterações glicolípídicas e antropométricas.

## 7. CONCLUSÃO

Com o presente estudo, conclui-se que:

- Não há diferenças de parâmetros do perfil glicolipídicos e antropométricos entre os grupos quanto à presença ou não do alelo A (rs670);
- Glicemia, triglicerídeos, IMC e CC têm correlação negativa com a concentração de c-HDL em indivíduos sem alelo A, entretanto essa correlação se torna fraca quando o alelo A está presente;
- Há correlação positiva entre concentração de c-HDL e a razão de HDL 1-2/9-10 independente do rs670, mas essa correlação é mais forte em indivíduos portadores do alelo A;
- Glicemia e índice de ApoB/ApoA têm correlação negativa com a razão HDL 1-2/9-10 em indivíduos com alelo A;
- O lag time HDL não tem correlação com rs670;
- O rs670 mostra ter influência importante no tamanho das partículas de HDL (razão HDL 1-2/9-10) em alterações no perfil glicolipídico (glicemia, c-HDL, c-LDL, triglicerídeos, ApoB e índice ApoB/ApoA) e antropométrico (circunferência da cintura e porcentagem de massa gorda).

## 8. REFERÊNCIAS

AL-YAHYAE, S.A., AL-KINDI, M.N., AL-BAHRANI, A.I. Apolipoprotein A I gene polymorphisms at the - 75 bp and +83 / 84 bp polymorphic sites in healthy Omanis compared with world populations. **Human Biology**, v. 76, p. 307-312, 2004.

ALGER, V. et al. Cholesterol Distribution Between High Density Lipoprotein Subfractions HDL2 and HDL3 Determined in Serum by Discontinuous Gradient Gel Electrophoresis. **J. Clin Chem**, v. 37, n. 7, p. 1149-1152, 1991.

ARNAO, V. et al. Lipoproteins in Atherosclerosis Process. **Current Medicinal Chemistry**, v. 26, p. 1525-1543, 2019.

ASSMANN, G., VON, E.A., FUNKE, H. Mutations in apolipoprotein genes and HDL metabolism. In: Rosseneu M, ed - Structure and Function of Apolipoproteins. **Florida: CRC Press Boca Raton**, p. 85-122, 1992.

BALTHAZAR, E.A. **Efeito combinado de polimorfismos nos genes do metabolismo lipídico (LIPC, APOA1 e APOE) e estilo de vida sobre os fatores de risco para doenças crônicas em adolescents**. Tese (Doutorado em Ciências Nutricionais). Araraquara Unesp. 2012.

BARTER, P. J. et al. Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary events. **N Engl J Med**, v. 357, n. 21, p. 2109–2122, 2007.

BEN-AICHA, S.; BADIMON, L.; VILAHUR, G. Advances in HDL : Much More than Lipid Transporters. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 732, 2020.

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

BOES, E. et al. Genetic-epidemiological evidence on genes associated with HDL cholesterol levels: A systematic in-depth review. **Exp. Gerontol.**, v. 44, n. 3, p. 136-160, 2009.

BRUINS, M. J., DAEL, P. V., EGGERSDORFER, M. The Role of Nutrients in Reducing the Risk for Noncommunicable Diseases during Aging. **Nutrients**, v. 11, p. 85, 2019.

CAETANO, A. R. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.

38, p. 64-71, 2009.

CARR, M.C. et al. The contribution of intraabdominal fat to gender differences in hepatic lipase activity and low/high density lipoprotein heterogeneity. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 86, p. 2831–2837, 2001.

CORELLA, D.; ORDOVAS, J.M. Single nucleotide polymorphisms that influence lipid metabolism: interaction with dietary factors. **Annual Review of Nutrition**, v. 25, p. 341-390, 2005.

CARDOSO, A. R. P., BoletimEpidemiológico - Doenças Crônicas Não Transmissíveis. **Secretaria de Saúde do Estado do Ceará**, 2017.

CASILLAS-MUÑOZ, F. et al. APOA1 and APOB polymorphisms and apolipoprotein concentrations as biomarkers of risk in acute coronary syndrome: Relationship with lipid-lowering therapy effectiveness. **Medicina Clínica**, v. 151, n. 1, p. 1-7, 2018.

CHO, KH. The Current Status of Research on High-Density Lipoproteins (HDL): A Paradigm Shift from HDL Quantity to HDL Quality and HDL Functionality. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, p. 3967, 2022.

DE FRANÇA, E., ALVES, J.G.B., HUTZ, M.H. APOA1/C3/A4 gene cluster variability and lipid levels in Brazilian children. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 535-541, 2005.

DE LUIS, D. A. Role of rs670 variant of APOA1 gene on lipid profile, insulin resistance and adipokine levels in obese subjects after weight loss with a dietary intervention. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 142, p. 139-145, 2018.

DE LUIS, D. A. The association of the rs670 variant of APOA1 gene with insulin resistance and lipid profile in morbid obese patients after a biliopancreatic diversion surgery. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 22, p. 8472-8479, 2018.

DE SOUSA, E. L. H. et al. **Marcadores bioquímicos e genéticos na predição de fatores de risco para doenças cardiovasculares em jovens universitários brasileiros e africanos**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas). 2020.

FEINGOLD, K. R. Lipid and Lipoprotein Metabolism. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 51, n. 3, p. 437-458, 2022.

FLORES, M.F. **Estudo de frequências de polimorfismos nos genes da apolipoproteína A-I (Apo A-I) e da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) em pacientes dislipidêmicos.** Dissertação (Mestrado em Diagnóstico Genético e Molecular). Universidade Luterana do Brasil. 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.

GOLLEDGE, J. et al. Apolipoprotein E genotype is associated with serum C-reactive protein but not abdominal aortic aneurysm. **Atherosclerosis**, v.209, p.487-491, 2010.

GÓMEZ, P. et al. The -514 C/T polymorphism in the hepatic lipase gene promoter is associated with insulin sensitivity in a healthy young population. **J. Mo. Endocrinol.**, v. 34, p. 331–338, 2005.

GROENENDIJK, M. et al. New genetic variants in the apoA-I and apoC-III genes and familial combined hyperlipidemia. **J. Lipid Res.**, v.42, p.188–194, 2001.

HARRIS, W. S.; VON SCHACKY, C. The Omega-3 Index: a new risk factor for death from coronary heart disease?. **Preventive Medicine**, v. 39, p. 212-220, 2004.

HOSSEINI-ESFAHANI, F. et al. The Effect of Interactions of Single Nucleotide Polymorphisms of APOA1/APOC3 with Food Group Intakes on the Risk of Metabolic Syndrome. **Avicenna J Med Biotech**, v. 9, n. 2, p. 94-103, 2017.

ISAACS, A. et al. The -514 C->T hepatic lipase promoter region polymorphism and plasma lipids: a meta-analysis. **J Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 89, n. 8, p. 3858-3863, 2004.

IZAOLA, O. et al. Association of rs670 variant of APOA1 gene with lipid profile and insulin resistance after 9 months of a high protein/low carbohydrate vs a standard hypocaloric diet. **Clinical Nutrition**, v. 30, p. 988-993, 2020.

IZZO, G. **Avaliação de polimorfismos de DNA em genes candidatos de pacientes com comprometimento cognitivo leve e a doença de Alzheimer.** 2008. Dissertação (Genética). Instituto de biociências da Universidade de São Paulo.

JI, J. et al. Hepatic lipase gene -514 C/T polymorphism and premature coronary heart disease. **J Cardio. Risk**, v. 9, p.105–113, 2002.



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

KAMBOH, M.I. et al. Haplotype analysis of two APOA1: MspI polymorphisms in relation to plasma levels of APO A-I and HDL-cholesterol. **Atherosclerosis**, v.127, p. 255-262, 1996.

KAWASHIRI, M. et al. Mendelian randomization: Its impact on cardiovascular disease. **Journal of Cardiology**, v. 72, p. 307-313, 2018.

KLOS, Kathy L.E.; KULLO, Iftikhar J. Genetic determinants of HDL: Monogenic disorders and contributions to variation. **Current Opinion in Cardiology**, v. 22, n. 4, p. 344–351, 2007.

KOOHDANI, F., et al. Association between ApoA-II -265 T/C polymorphism and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. **Journal of Diabetes and Its Complications**, v. 29, n. 7, p. 908-912, 2015.

KOSTNER, G. M.; MOLINARI, E.; PICHLER, P. Evaluation of a New HDL2/HDL3 Quantitation Method Based on Precipitation with Polyethylene Glycol. **Clinica Chimica Acta**, v. 148, p. 139-147, 1985.

LANDER, E.S.; WEINBERG, R.A. Genomics: journey to the center of biology. **Science**, v. 287, p. 1777-1782, 2000.

LARSON, I.A. et al. Effects of apolipoprotein A-I genetic variations on plasma apolipoprotein, serum lipoprotein and glucose levels. **Clinical Genetics**, v. 61, p. 176-184, 2002.

LEANÇA, C. C. et al. HDL: o yin-yang da doença cardiovascular. **Arq Bras Endocrinol Metab.** v. 54, n. 9, p. 777-784, 2010.

LIAO, B. et al. Effect of apolipoprotein A1 genetic polymorphisms on lipid profiles and the risk of coronary artery disease. **Diagnostic Pathology**, v.102, n. 10, p. 1-5, 2015.

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.

LIU, Q. K. Triglyceride-lowering and anti-inflammatory mechanisms of omega-3 polyunsaturated fatty acids for atherosclerotic cardiovascular risk reduction. **Journal of Clinical Lipidology**, v.15, p. 556-568, 2021.

LOTFOLLAHI, Z. et al. The Anti-inflammatory and Proangiogenic Properties of High-Density Lipoproteins: An Emerging Role in Diabetic Wound Healing. **Advances in Wound Care**, v. 10, n. 7, p. 370-380, 2020.

LOVEGROVE, J. A.; GITAU, R. Nutrigenetics and CVD: What does the future hold? **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 67, p.206-213, 2008.

MA, Y.Q., THOMAS, G.N., TOMLINSON, B. Association of two apolipoprotein A-I gene MspI polymorphisms with lipid and blood pressure levels. **International Journal of Cardiology**, v.102, p. 309-314, 2005.

MANSUR, A.P. et al. Angiotensin-converting enzyme and apolipoprotein genes polymorphism in coronary artery disease. **Clinical Cardiology**, v.23, p. 335-340, 2000.

MÄRS, W. et al. HDL cholesterol: reappraisal of its clinical relevance. **Clin Res Cardiol**, v. 106, p. 663-675, 2017.

MENESES, R. R. C. et al. Hypertriglyceridemia promotes dysfunctions in highdensity lipoprotein increasing the cardiovascular risk. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 58, p. 1-13, 2022.

MINIHANE, A.M. et al. ApoE genotype, cardiovascular risk and responsiveness to dietary fat manipulation. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.66, p. 183-197, 2007.

OLIVEIRA, G. M. M. et al. Estatística Cardiovascular – Brasil 2021. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 118, p. 115-373, 2022.

ORDOVAS, J.M. et al. Dietary fat intake determines the effect of a common polymorphism in the hepatic lipase gene promoter on high-density lipoprotein metabolism: evidence of a strong dose effect in this gene-nutrient interaction in the Framingham Study. **Circulation**, v.106, p. 2315-2321, 2002.

ORDOVAS, J.M. Nutrigenetics, Plasma Lipids, and Cardiovascular Risk. **J. Am. Diet. Assoc.**, v. 106, p. 1074-1081, 2006.

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

PATNI, N. et al. Genetics and Dyslipidemia. **Endotext** [Internet], 2023.

PEREZ-BELTRAN, Y. E. et al. Personalized Dietary Recommendations Based on Lipid-Related Genetic Variants: A Systematic Review. *Frontiers in Nutrition*, v.9, 2022.

PIRILLO, A.; CATAPANO, A. L.; NORATA, G. D. Biological Consequences of Dysfunctional HDL. *Current Medicinal Chemistry*, v. 26, n. 9, p. 1644-1664, 2019.

RAMEZANI-JOLFAIE, N. et al. Association of rs670 variant of APOA-1 gene with cardiometabolic markers after consuming sesame, canola and sesame-canola oils in adults with and without type 2 diabetes mellitus. *Clinical Nutrition*, v. 38, p. 129-137, 2020.

RODRIGUEZ, D. et al. Update on Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Cardiovascular Health. *Nutrients*, v. 14, n. 5146, p. 1-15, 2022.

ROSALES, C. et al. The Alcohol–High-Density Lipoprotein Athero-Protective Axis. *Biomolecules*, v. 10, n. 987, p. 1-16, 2020.

ROTH, G. A. et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990–2019. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 76, p. 25, 2020.

RUDKOWSKA, I. et al. Omega-3 fatty acids, polymorphisms and lipid related cardiovascular disease risk factors in the Inuit population. *Nutrition & Metabolism*, v. 10, n. 26, p. 1-9, 2013.

RUIZ-RAMIE, J. J.; BARBER, J. L.; SARZYNSKI, M. A. Effects of exercise on HDL functionality. *Current Opinion in Lipidology*, v. 30, n. 1, p. 16-23, 2019.

SANTORO, A. **Identificação de Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) no gene Nove-cis-epoxicarotenóide dioxigenase (NCED) em Eucalyptus.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Genética) - Instituto de Biociências. Universidade Estadual Paulista. 2010.

SHIOJI, K. et al. An association analysis between ApoA1 polymorphisms and the high-density lipoprotein (HDL) cholesterol level and myocardial infarction (MI) in Japanese. **J. Hum. Genet.**, v. 49, p.433–439, 2004.

SOBCZAK, A. I. S.; BLINDAUER, C. A.; STEWART, A. J. Changes in Plasma Free Fatty Acids Associated with Type-2 Diabetes. **Nutrients**, v. 11, p. 1-42, 2019.

SOMEKAWA, Y. et al. Effects of hormone replacement therapy and hepatic lipase polymorphism on serum lipid profiles in postmenopausal Japanese women. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 87, n. 10, p. 4766-4770, 2002.

SOPPERT, J. et al. Lipoproteins and lipids in cardiovascular disease: from mechanistic insights to therapeutic targeting. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 159, p. 4-33, 2020

SOUSA, E.L.H. **Marcadores bioquímicos e genéticos na predição de fatores de risco para doenças cardiovasculares em jovens universitários brasileiros e africanos.** Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem. Universidade Federal do Ceará. 2020

SUPAJAREE, P. et al. Association between ApoA1 Gene, Plasma Lipid Profile, hsCRP Level, and Risk of Arterial Stiffness in Thai Elderly. **Advances in Preventive Medicine**, p. 1-8, 2022.

TANAKA, S. et al. High-density lipoproteins during sepsis: from bench to bedside. **Critical Care**, v. 24, n. 134, p. 1-11, 2020.

van VLIET-OSTAPTCHOUK, J. V.; SNIDER, H.; LAGOU, V. Gene–Lifestyle Interactions in Obesity. **Curr Nutr Rep**, v. 1, p. 184-196, 2012.

VAVLUKIS, A. et al. ANTIOXIDATIVE EFFECTS OF ROSUVASTATIN IN LOW-TO-MODERATE CARDIOVASCULAR RISK SUBJECTS. **Makedon Akad Nauk Umet Odd Med Nauki**, v. 43, n. 1, p. 65-75, 2022.

WANG, X. et al. Interactions among genes involved in reverse cholesterol transport and in the response to environmental factors in dyslipidemia in subjects from the Xinjiang rural area. **PLoS ONE**, v. 13, n. 5, p. 1-13, 2018.

WANG, X.L. et al. Polymorphisms at the 5'-end of the apolipoprotein A1 gene and severity of coronary artery disease. **Journal of Clinical Investigation**, v. 98, p. 372-377, 1996.

WANG, Y. Et al. The association between apolipoprotein A1-C3-A5 gene cluster promoter polymorphisms and risk of ischemic stroke in the northern Chinese Han

population. **Journal of International Medical Research**, v. 45, n. 6, p. 2042–2052, 2017.

WEISGRABER, K.H. et al. Apolipoprotein A-I Milano. Detection of normal A-I in affected subjects and evidence for a cysteine for arginine substitution in the variant A-I. **Journal of Biological Chemistry**, v. 258, p. 2508-2513, 1983.

WU, Y. et al. Interactions of Environmental Factors and APOA1-APOC3-APOA4-APOA5 Gene Cluster Gene Polymorphisms with Metabolic Syndrome. **PLoS ONE**, v. 11, n. 1, p. 1-17, 2016.

YAMADA, Y. et al. Prediction of genetic risk for dyslipidemia. **Genomics**, v.90, p.551–558, 2007.

YAMAKAWA-KOBAYASHI, K. et al. Relation of the -514C/T polymorphism in the hepatic lipase gene to serum HDL and LDL cholesterol levels in postmenopausal women under hormone replacement therapy. **Atherosclerosis**, v. 162, n. 1, p. 17-21, 2002.

ZAIA, D. A. M. et al. Determinação de proteínas totais via espectrofotometria: vantagens e desvantagens dos métodos existentes. **Química Nova**, v. 21, p. 6, 1998.

ZAMBON, A. et al. Common hepatic lipase gene promoter variant determines clinical response to intensive lipid-lowering treatment. **Circulation**, v.103, p. 792 –798, 2001.

ZHANG, C. et al. Interactions between the -514C->T polymorphism of the hepatic lipase gene and lifestyle factors in relation to HDL concentrations among US diabetic men. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 81, n. 6, p. 1429-1435, 2005.

ZIMETTI, F. et al. Connection between the Altered HDL Antioxidant and AntiInflammatory Properties and the Risk to Develop Alzheimer's Disease: A Narrative Review. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2021.

ZOU, Y. et al. Relationships among apolipoprotein A1 gene polymorphisms, lipid levels and coronary atherosclerosis disease. **Chinese Medical Journal**, v.116, p. 665-668, 2003.

## 9. 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: _____		



## Anexo 2

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

TÍTULO DA PESQUISA:

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

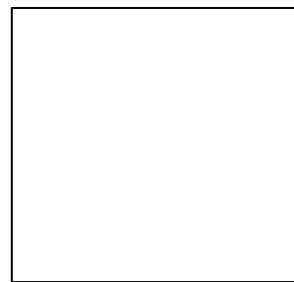
Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr.(a) \_\_\_\_\_, portador(a) da cédula de identidade \_\_\_\_\_, declara que, após leitura minuciosa do TCLE, teve oportunidade de fazer perguntas, esclarecer dúvidas que foram devidamente explicadas pelos pesquisadores, ciente dos serviços 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 3

BJPS

Brazilian Journal of  
Pharmaceutical Sciences<http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902022e20488>

Article

**Hypertriglyceridemia promotes dysfunctions in high-density lipoprotein increasing the cardiovascular risk**

Richard Rarison Cavalcante Meneses<sup>1</sup>, Nágila Raquel Teixeira Damasceno<sup>2</sup>,  
Flávia De Conti Cartolano<sup>3</sup>, Sara Maria Moreira Lima Verde<sup>3</sup>,  
Leticia Gomes Lira<sup>3</sup>, Mariana Brito Dantas<sup>1</sup>, Glautemberg de Almeida Viana<sup>4</sup>,  
Mateus Edson da Silva<sup>1</sup>, Ederson Laurindo Holanda de Sousa<sup>1</sup>, Gdayllon  
Cavalcante Meneses<sup>1</sup>, Jamile Magalhães Ferreira<sup>4</sup>,  
Tiago Lima Sampaio<sup>1</sup>, Maria Goretti Rodrigues de Queiroz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical and Toxicological Analysis, Faculty of Pharmacy, Dentistry and Nursing, Federal University of Ceara, Fortaleza, Brazil, <sup>2</sup>Department of Nutrition, School of Public Health, University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil, <sup>3</sup>Department of Nutrition, University of Fortaleza, Fortaleza, Brazil, <sup>4</sup>University of International Integration of Afro-Brazilian Lusophony, Brazil

Hypertriglyceridemia is associated with several metabolic diseases. The triglycerides (TG) disrupt the cholesterol reverse transport and contribute to increased levels of low-density lipoprotein (LDL). High-density lipoprotein (HDL) acts in cholesterol reverse transport as an anti-inflammatory and antioxidant. This study aims to investigate the role of hypertriglyceridemia in the functionality of HDL. Individuals were divided into 4 groups based on high or low HDL-c and triglycerides levels. Biochemical and anthropometric analysis were performed. This study demonstrated that triglycerides promote dysfunctions on HDL, increasing the cardiovascular risk. Blood pressure was higher in subjects with low HDL. Women presented higher levels of HDL-c and low percentage of fat mass. The highest levels of triglycerides were observed in older age. In addition, high levels of triglycerides were associated with higher total cholesterol and LDL-c levels, non-HDL-c, non-esterified fatty acids, and blood glucose, increasing in the ratio of non-HDL-c/HDL-c and ApoB/ApoA-I. The increase of triglycerides levels progressively impairs the antioxidant capacity of HDL, probably due to a higher occurrence of fatty acid peroxidation in individuals with hypertriglyceridemia. Patients with high HDL and low TG levels increased the Lag Time. Furthermore, a positive correlation was found between TG versus HDL particle size, variables that depend on age and anthropometric parameters.

**Keywords:** Triglycerides. Lipoproteins. Apolipoprotein A-I. Dyslipidemia.