Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

Desenvolvimento de um escore de funcionalidade da lipoproteína de alta densidade (HDL) e sua associação com algoritmos de predição de risco cardiovascular e aterosclerose subclínica em indivíduos brasileiros

Maria Camila Pruper de Freitas

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição em Saúde Pública para obtenção do título de Doutora em Ciências

Área de Concentração: Nutrição em Saúde Pública

Orientadora: Profa. Assoc. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno

São Paulo
2019

Desenvolvimento de um escore de funcionalidade da lipoproteína de alta densidade (HDL) e sua associação com algoritmos de predição de risco cardiovascular e aterosclerose subclínica em indivíduos brasileiros

Maria Camila Pruper de Freitas

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências

Área de Concentração: Nutrição em Saúde Pública

Orientadora: Profa. Assoc. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno

Versão Simplificada

São Paulo

2019

Autorizo a reprodução e a divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Dedicatória

*À minha **Avó Elza** (in memoriam), que me ajudou desde o começo, tornando meu caminho mais seguro em direção ao sucesso.*

Agradecimentos

*A **Deus**, por me iluminar e preservar minha paz nos momentos de incertezas.*

*Ao meu melhor amigo e companheiro fiel, que esteve comigo em todos os momentos, tornando meus dias mais alegres, meu **Gatito** amado.*

*À minha orientadora **Profa. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno**, que apesar de todas as dificuldades, nunca deixou de acreditar em minha capacidade e sempre me motivou. Quando eu me orgulhar das minhas conquistas, me lembrarei da senhora, pessoa que confiou no meu potencial e investiu em mim.*

Muito obrigada professora Nágila, pelo meu projeto, que é a minha cara, e por todo o apoio, tanto no âmbito profissional, quanto no pessoal, todos os méritos dessa vitória nós conquistamos juntas.

*Os **agradecimentos especiais** são dedicados àqueles que possibilitaram a efetivação do meu projeto, pois sem*

essas parcerias ele não teria saído do papel.

Prof. Dr. Paulo Andrade Lotufo, agradeço por disponibilizar os dados do seu estudo ELSA-Brasil.

João Ítalo Dias França, muito obrigada pela assessoria na análise dos dados e principalmente por sua paciência e generosidade.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (**FAPESP** - Processo 2015/06565-5) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES-2015**), agradeço à bolsa de Doutorado concedida,

Agradeço também,

A todos os professores que participaram da minha história, e que de alguma maneira contribuíram para o meu sucesso.

Aos companheiros do grupo de pesquisa, com quem pude compartilhar conhecimentos e descobertas.

Aos funcionários da Faculdade de Saúde Pública em especial ao pessoal do Departamento de Nutrição, seção de pós-graduação e técnicas dos laboratórios de Nutrição Humana e Nutrição Experimental.

Ao professor **Dr. Antonio Martins Figueiredo Neto**, *do Instituto de Fluídos Complexos do Instituto de Física da Universidade de São Paulo, pela sua colaboração e parceria em nosso grupo de pesquisa.*

Aos participantes dos estudos, pelo tempo dedicado e contribuição para o desenvolvimento desta pesquisa e para a ciência.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo **FAPESP** *(Processo 2011/12523-2), Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fluídos Completos (***INCT-FCx** *2010-2014) e ao Núcleo de Apoio à Pesquisa de Fluídos Complexos (***NAP-FCx** *2011-2016), pelo auxílio financeiro ao projeto.*

Muito obrigada!

"Acredito em Deus, todos os outros devem apresentar dados e fatos".

William Edwards Deming

RESUMO

Freitas, MCP. **Desenvolvimento de um escore de funcionalidade da lipoproteína de alta densidade (HDL) e sua associação com algoritmos de predição de risco cardiovascular e aterosclerose subclínica em indivíduos brasileiros.** [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo; 2019.

Introdução: estudos recentes demonstram que o aumento do colesterol na lipoproteína de alta densidade (HDL-C), induzido por medicamentos ou mutações genéticas, não é associado à redução de eventos coronarianos. A lipoproteína de alta densidade (HDL) apresenta aspectos funcionais distintos em relação ao seu papel cardioprotetor. **Objetivo:** desenvolver um escore de funcionalidade da HDL (EFH) e avaliar a sua associação com algoritmos de predição de risco cardiovascular e aterosclerose subclínica em indivíduos brasileiros. **Metodologia:** trata-se de um estudo transversal composto por duas etapas. Na 1ª etapa, o EFH preditor de risco cardiovascular (EFH-RCV) foi desenvolvimento e validado a partir de uma subamostra do estudo **CARDIONUTRI** (n=354). Na 2ª etapa, o EFH preditor de aterosclerose subclínica (EFH-AS) foi desenvolvido e validado com dados de uma subamostra do estudo **ELSA-Brasil** (n=4549)**. Conclusão:** o EFH apresentou maior força de associação com o risco cardiovascular e a aterosclerose subclínica, independente do HDL-C, com destaque para a HDL grande. Resultados controversos entre a associação das subfrações com o risco cardiovascular parecem manter uma relação com as metodologias distintas utilizadas nas análises. Portanto, a validação dos métodos e a inclusão do tamanho da HDL como marcador de risco cardiovascular revela um futuro promissor como adjuvante na estimativa do risco cardiovascular, manejo de medicamentos e tomada de decisões na prática clínica.

Descritores: Lipoproteínas, lipoproteína de alta densidade, HDL, funcionalidade da HDL, tamanho da HDL, risco cardiovascular, algoritmos de risco cardiovascular.

ABSTRACT

Freitas, MCP. **Development of a high density-lipoprotein (HDL) functionality score associated with predictive cardiovascular risk algorithms and subclinical atherosclerosis in Brazilian individuals** [PhD Degree]. Sao Paulo: School of Public Health, University of Sao Paulo; 2019.

Introduction: current studies have not presented association between high density-lipoprotein cholesterol (HDL-C) increase, induced by drugs or genetic mutations, and coronary events reduction. HDL plays different functional cardioprotective role. **Objective:** to develop a HDL functionality score (HFS) and to assessment its association with predictive cardiovascular risk algorithms and subclinical atherosclerosis outcomes in Brazilian subjects. **Methods:** cross-sectional study based in two steps. In the first step, the HFS predictor of cardiovascular risk disease (HFS-CVR) was developed and validated on **CARDIONUTRI** study subsample (n=354). In second step the HFS predictor of subclinical atherosclerosis (HFS-SA) was developed and validated on **ELSA-Brasil** study subsample (n=4549). **Conclusion:** the HFS demonstrates strong association with cardiovascular risk and subclinical atherosclerosis, independent of HDL-C, with emphasis on large HDL. Controversial results between HDL subfractions and cardiovascular risk seem to maintain a relation with the different methodologies used in the analysis. Therefore, the validation of the methods and the inclusion of the HDL size as a cardiovascular risk marker reveal a promising future as an adjunct in the estimation of cardiovascular risk, drug management and decision making in clinical practice.

Keywords: lipoprotein, high density-lipoprotein, HDL, HDL functionality, HDL size, cardiovascular risk factors, cardiovascular risk algorithms.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....15
1.1. Aspectos epidemiológicos das doenças cardiovasculares.....15
1.2. Lipoproteínas na progressão da aterosclerose.....16
1.3. Funcionalidade da HDL na proteção cardiovascular.....18
1.4. Algoritmos de predição de risco cardiovascular.....22
1.5. Calcificação da artéria coronária como preditor de aterosclerose subclínica.....26
2. OBJETIVO.....27
3. METODOLOGIA.....28
3.1. Delineamento do estudo.....28
3.2. Amostra do estudo CARDIONTRI.....28
3.3. Amostra do estudo ELSA-Brasil.....29
4. DISCUSSÃO.....30
5. CONCLUSÃO.....41
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....42
7. ANEXOS.....59
8. CURRICULO LATTES.....64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Papel da LDL na progressão da aterosclerose.....16
Figura 2. Funcionalidade da HDL na proteção cardiovascular.....19
Figura 3. Estimativa do risco cardiovascular.....22
Figura 4. Progressão da calcificação da artéria coronária.....26

SIGLAS

ABCA1	*ATP-binding cassette transporter A1*
ABCG1	*ATP-binding cassette transporter A1*
APOAI	Apolipoproteína AI
ATPIII/2013	*Adult Treatment Panel III/2013*
AUC	*Area under curve* – área sob a curva
CAC	Calcificação da artéria coronária
CC	Circunferência da cintura
CETP	Proteína de transferência de ésteres de colesterol
CT	Colesterol total
DLP	Dislipidemias
DM	Diabetes Mellitus
DO	Densidade óptica
DO/min	Densidade óptica por minuto
CAC	Calcificação da artéria coronária
ECG	Eletrocardiograma
ECIMC	Espessura da camada íntima média da carótida
EFH	Escore de funcionalidade da HDL
EFH-AS	EFH preditor de aterosclerose subclínica
EFH-RCV	EFH preditor de risco cardiovascular
ELSA-Brasil	Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto
ERF	Escore de Risco de *Framingham*
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ERR	Escore de Risco de *Reynolds*
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HDL-C	Colesterol associado à lipoproteína de alta densidade
IAM	Infarto agudo do miocárdio
ICAM	*Intercelular adhesion molecules*
IL-1β	Interleucina 1β
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de massa corporal

LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDL-C	Colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade
LPS	Lipopolissacarídeos
MCP-1	Proteína de quimioatração de monócitos
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAS	Pressão arterial sistólica
PAD	Pressão arterial diastólica
PCR	Proteína C-reativa
PON1	Paraoxonase 1
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
ROC	*Receiver Operating Characteristic Curve*
SRB1	S*cavenger receptor B1*
TAG	Triacilgliceróis
TCMD	Tomografia computadorizada multidetectores
TLR4	*Toll like receptor 4*
TRC	Transporte reverso do colesterol
VAP	*Vertical Auto Profile*
VCAM	*Vascular cell adhesion molecules*
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
SPSS	*Statistical Package for the Social Sciences*
HDL grande	Colesterol nas partículas grandes da HDL - Lipoprint®
HDL pequena	Colesterol nas partículas pequenas da HDL - Lipoprint®
HDL-P total	Concentração de partículas de HDL - RNM
HDL-P grande	Concentração de partículas grandes da HDL - RMN
HDL-P pequena	Concentração de partículas pequenas da HDL - RMN
HDL2	Colesterol nas partículas grandes da HDL - VAP
HDL3	Colesterol nas partículas grandes da HDL - VAP

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos epidemiológicos das doenças cardiovasculares

As doenças cardiovasculares são as principais causas de mortalidade e morbidade no Brasil e no mundo. Dados recentes da Organização Mundial da Saúde (OMS) estimam que 17,9 milhões de pessoas morreram de doenças cardiovasculares em 2016, representando 31% de todas as mortes no mundo. De acordo com a OMS, as pessoas com doenças cardiovasculares ou alto risco cardiovascular devem ser diagnosticadas e iniciar o tratamento precoce a partir do manejo adequado de medicamentos (OMS, 2017).

A primeira manifestação das doenças cardiovasculares na maioria dos casos é o evento coronariano, tendo como base fisiopatológica a aterosclerose, que pode se desenvolver de maneira insidiosa ao longo de décadas (MOSCA, 2007). Nesse contexto, a identificação de indivíduos assintomáticos com predisposição é fundamental na estimativa do risco cardiovascular e tomada de decisões. Porém, apesar da utilidade das ferramentas disponíveis para predição do risco cardiovascular, a abordagem de fatores de risco clássicos parece não prever o risco global, visto que indivíduos com risco baixo e intermediário continuam apresentando eventos cardiovasculares (ALAGONA e AHMAD, 2015).

Os programas de políticas públicas têm proposto maior enfoque em fatores de risco modificáveis incluindo tabagismo, obesidade, uso nocivo de álcool e sedentarismo, levando a reduções sutis na prevalência de alguns fatores de risco tradicionais, como o tabagismo (OMS, 2017). Entretanto, a prevalência da obesidade vem aumentando de maneira acentuada nas últimas décadas, com consequente influência na homeostase dos lipídeos plasmáticos, aumento de triacilgliceróis (TAG), redução do colesterol na lipoproteína de alta densidade (HDL-C) e aumento do colesterol na lipoproteína de baixa densidade (LDL-C), fatores que mantém associação com o risco cardiovascular (NECP-ATPIII, 2001).

A avaliação adequada do risco cardiovascular, no que diz respeito às dislipidemias (DLP), compreende as análises do LDL-C e HDL-C. Segundo as diretrizes clínicas, com base em resultados de estudos populacionais, o aumento do risco cardiovascular está relacionado ao aumento do LDL-C e redução do HDL-C. O desequilíbrio na concentração plasmática dessas lipoproteínas é o evento chave na progressão da aterosclerose (FALUDI et al. 2017).

1.2. Lipoproteínas na progressão da aterosclerose

A formação das placas ateroscleróticas se inicia com o acúmulo de lipoproteínas na parede das artérias, principalmente a lipoproteína de baixa densidade (LDL), com consequente agressão ao endotélio vascular e disfunção endotelial, mediados por processo inflamatório, induzido pela modificação da LDL no espaço subendotelial (ROSS e GLOMSET, 1976).

O acúmulo de LDL nas artérias ocorre de maneira proporcional ao aumento da concentração de LDL-C no plasma (HANSSON, 2005). Na camada íntima da artéria, a LDL modificada recruta monócitos que se transformam em macrófagos para formar as células espumosas, dando início à progressão da placa aterosclerótica (**Figura 1).**

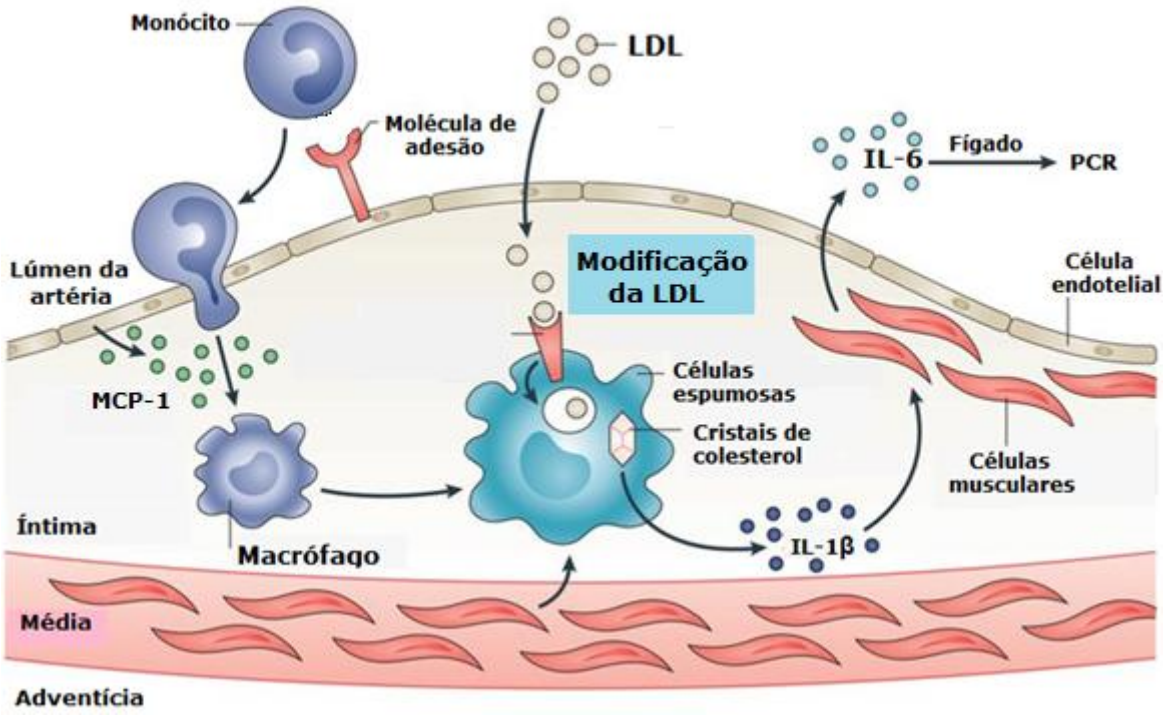


Figura 1. Papel da LDL na progressão da aterosclerose. **Fonte:** adaptada de GISTERÅ e HANSSON (2017). **Siglas:** LDL: lipoproteína de baixa densidade; MCP-1: proteína de quimioatração de monócitos; IL-6: interleucina 6; PCR: proteína C reativa; IL-1β: interleucina 1-β.

A LDL modificada aumenta a expressão de moléculas de adesão e dos ligantes da proteína de quimioatração de monócitos (MCP-1), que estimulam o recrutamento e adesão de monócitos no endotélio. As células espumosas são compostas por macrófagos, lipoproteínas modificadas e cristais de colesterol. Os cristais de colesterol presentes nas placas estimulam a

síntese interleucina 1-β (IL-1β) que por sua vez estimula a síntese de interleucina 6 (IL-6) e a produção de proteína C-reativa (PCR) no fígado, desencadeando um quadro de inflamação subclínica e início da formação da placa de ateroma (GISTERÅ e HANSSON, 2017).

O papel do LDL-C como fator de risco cardiovascular e o maior potencial aterogênico e inflamatório de partículas de LDL modificadas já são bem estabelecidos na literatura (STEINBERG et al. 1989; SEVANIAN et al. 1999; ITABE et al. 2011; HIRAYAMA e MIDA, 2012; NIKOLIC et al. 2013). Partículas pequenas de LDL são mais suscetíveis à oxidação e são citadas como preditoras independentes na progressão da aterosclerose em estudo de coorte (GAO et al. 2018), além de serem citadas como melhores biomarcadores de aterosclerose em revisão recente (IVANOVA et al. 2017).

Em contrapartida, estudos epidemiológicos clássicos demonstram a associação inversa das concentrações plasmáticas do HDL-C e a incidência de doença aterosclerótica coronariana (WILSON et al. 1988; ASSMANN et al. 1996).

A lipoproteína de alta densidade (HDL) desempenha papel importante no metabolismo lipídico e o seu mecanismo cardioprotetor clássico é o transporte reverso do colesterol (TRC), que promove a remoção e transporte do excesso de colesterol das células periféricas e dos macrófagos da parede arterial para o fígado, onde é sintetizado em sais biliares ou excretado (RYE e BARTER, 2004). A capacidade da HDL em promover o efluxo do colesterol foi inversamente associada com a espessura da camada íntima média da artéria e com a presença de doença coronariana, independente das concentrações de HDL-C (KHERA et al. 2011). O efluxo do colesterol dos macrófagos da intima arterial pela HDL é essencial para prevenir a formação de células espumosas e progressão da aterosclerose (TALL, 2008).

A homeostase dos lipídeos é relacionada às concentrações adequadas de lipoproteínas plasmáticas. O manejo terapêutico do colesterol associado às lipoproteínas se tornou foco de pesquisas recorrentes na tentativa de atenuar o desenvolvimento das placas ateroscleróticas. As estatinas são eficazes na redução do LDL-C e mortalidade por doenças cardiovasculares, porém o aumento ocasionado nas concentrações do HDL-C não foi associado à redução de eventos coronarianos (CZIRAKY et al. 2008, PIRILLO et al. 2013).

A proteína de transferência de ésteres de colesterol (CETP) transfere os ésteres de colesterol da HDL para lipoproteínas pró-aterogênicas, como a LDL, em troca de TAG. A interação entre as lipoproteínas reduz a concentração plasmática de HDL-C, além de aumentar a síntese de LDL pequena e densa. Estudos populacionais iniciais revelaram que alguns polimorfismos que reduzem a atividade da CETP se associaram a redução de doenças

cardiovasculares (RIDKER et al. 2009). Portanto, a CETP tornou-se alvo de pesquisas no desenvolvimento de fármacos capazes de aumentar diretamente o HDL-C.

Ensaios clínicos com inibidores da CETP foram desenvolvidos como alternativa para aumentar as concentrações plasmáticas do HDL-C. Os estudos iniciais avaliando o uso dos inibidores da CETP não demonstraram associação com a redução de eventos coronarianos, pelo contrário, um dos estudos associou a intervenção ao aumento da mortalidade. Entretanto, um estudo recente descreveu a redução de 9% na ocorrência de eventos cardiovasculares após o uso de inibidores da CETP (HU e WALKER, 2017).

Estudos prospectivos que avaliaram a associação do HDL-C extremo também apresentaram resultados controversos. Os resultados descritos recentemente por MADSEN (2017) são derivados de uma coorte com mais de 100 mil participantes e demonstram associação em U do HDL-C com todas as causas de morte em indivíduos de ambos os sexos. Em contrapartida, os resultados provenientes da coorte ELSA-Brasil com uma subamostra de quase 10 mil participantes demonstraram associação do HDL-C extremo (≥90 mg/dL) com a redução da espessura da camada intima da artéria (LAURINAVICIUS et al. 2016).

Com base nos resultados controversos, grande atenção tem sido dada aos mecanismos cardioprotetores da HDL, adicionais ao conteúdo de colesterol na lipoproteína. As subfrações da HDL representam uma população bastante heterogênea em relação ao tamanho das partículas, composição, conteúdo de enzimas e substâncias antioxidantes, quantidade de lipídeos e proteínas, refletindo diretamente em sua funcionalidade e proteção cardiovascular (LIBBY, 2002; XU et al. 2003; ROSENSON et al. 2011).

1.3. Funcionalidade da HDL na proteção cardiovascular

A HDL desempenha diversas atividades biológicas que podem se associar à proteção cardiovascular e redução da progressão da aterosclerose, independente do conteúdo de colesterol na partícula. Estudos recentes descrevem o potencial papel cardioprotetor da HDL por sua ação antioxidante, anti-inflamatória, antitrombótica e vasodilatadora, além de transportar microRNAs que modulam a expressão de moléculas de adesão e receptores de colesterol (BARTER et al. 2004; KONTUSH et al. 2006; MINEO e SHAUL, 2012; VAN DER STOEP et al. 2014; KAJANI et al. 2018) (**Figura 2**).

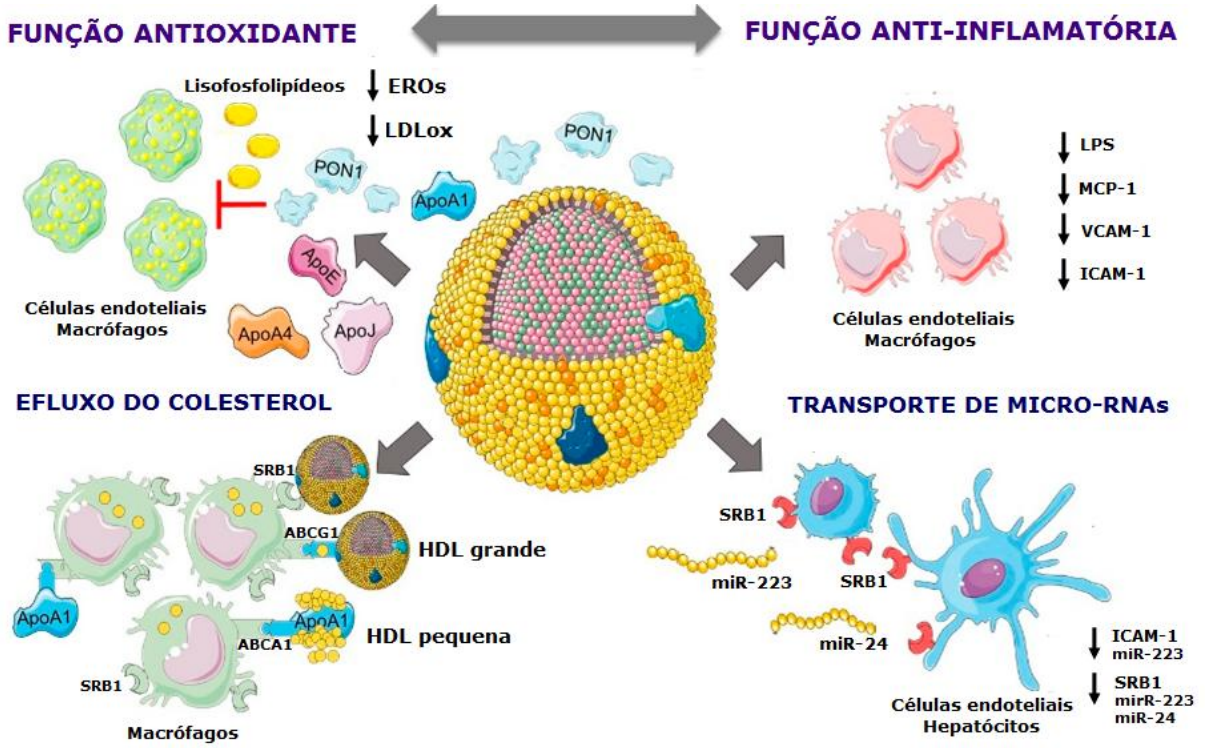


Figura 2. Funcionalidade da HDL na proteção cardiovascular. **Fonte:** adaptado de KAJANI et al. 2018. **Siglas:** EROS; espécies reativas de oxigênio, LDLox: lipoproteína de baixa densidade oxidada; PON1: paraoxonase 1; APO: apolipoproteínas; LPS: lipopolissacarídeos; MCP-1: proteína de quimioatração de monócitos; VCAM-1: *vascular cell adhesion molecules 1*; ICAM-1: *intercelular adhesion molecules* 1; SRB1: s*cavenger receptor B1*; ABCG1: *ATP-binding cassette transporter G1;* ABCA1: *ATP-binding cassette transporter A1*; HDL: lipoproteína de alta densidade: miR: microRNA.

A HDL promove o efluxo do colesterol das células periféricas, que é mediado pelos transportadores *ATP-binding cassette transporter A1* (ABCA1), *ATP-binding cassette transporter G1* (ABCG1) e s*cavenger receptor B1* (SRB1) (TALL, 1993; ADORNI et al. 2007). As partículas grandes da HDL conferem melhor captação do colesterol, via receptor ABCG1, além da transferência facilitada de éster de colesterol hepático, via receptores SRB1, enquanto as partículas pequenas de HDL promovem o efluxo do colesterol dos macrófagos via transportador ABCA1 (FAVARI et al. 2009; ASZTALOS et al. 2005).

A função antioxidante da HDL é relacionada às proteínas e enzimas que compõem a partícula. A enzima paraoxonase 1 (PON1) hidrolisa produtos de oxidação da LDL presentes no espaço subendotelial e reduz as espécies reativas de oxigênio (EROs). Estudos experimentais que testaram um peptídeo sintético da apolipoproteína AI (APOAI) demonstram a redução da oxidação da LDL via ABCA1 que estimula a síntese de enzimas antioxidantes e previne o estresse oxidativo (BARTER et al. 2003; LIU et al. 2017).

A HDL exerce propriedades anti-inflamatórias entre as quais se encontra a inibição da expressão das moléculas de adesão na superfície das membranas celulares endoteliais, *intercelular adhesion molecules* (ICAM) e *vascular cell adhesion molecules* (VCAM),

responsáveis pelo recrutamento monocitário plasmático para o interior da parede vascular (BLANKENBERG et al. 2003). Acredita-se que uma das principais propriedades anti-inflamatórias da HDL seja sua capacidade de sequestrar lipopolissacarídeos (LPS) na circulação, inibindo a via de sinalização do receptor do tipo *toll like receptor 4* (TLR4) em monócitos, além de inibir a síntese de MCP-1, molécula envolvida no recrutamento de monócitos para a camada subendotelial das artérias (FLEGEL et al. 1993; GU et al. 1998). Em experimentos com culturas celulares, a adição de HDL ao meio celular contendo LDL promoveu importante redução da transmigração monocitária (NAVAB et al. 1991).

A HDL transporta microRNAs que diminuem a expressão de moléculas de adesão e de receptores de colesterol, mantendo a partícula mais tempo na circulação, contribuindo com a remoção do excesso de colesterol (VICKERS et al. 2011; REN et al. 2018).

A principal proteína da HDL, a APOAI, compõe cerca de 70% da partícula e desempenha papel importante no efluxo de colesterol, atividade antioxidante e capacidade antitrombótica pela ativação da cascata de coagulação sanguínea (OSLAKOVIC et al. 2009).

Os efeitos vasoativos da HDL protegem o endotélio. A ligação da HDL ao receptor SRBI ativa a enzima óxido nítrico sintase endotelial, promovendo aumento da liberação de óxido nítrico pelas células endoteliais. Esse mecanismo parece se relacionar com os lisofosfolipídeos carreados pela HDL e representam um aspecto interessante em sua função vasodilatadora (SHAUL e MINEO, 2004; NOFER, 2004).

O papel antiaterogênico das subfrações da HDL ainda é discutido e controverso, embora, no geral, indivíduos com doenças coronarianas apresentem maiores concentrações de HDL pequenas e densas (MOVVA e RADER 2008; CAMONT et al. 2011, PIRILLO et al. 2013; XU et al. 2015).

O efluxo do colesterol é uma das atividades mais importantes da HDL, porém a sua ação antioxidante também pode reduzir o risco para doenças cardiovasculares. KONTUSH et al. (2003) demonstraram que a atividade antioxidante das subfrações da HDL é dependente da densidade de suas partículas, sendo as menores e mais densas potencialmente mais antioxidantes. A heterogeneidade na atividade antioxidante entre as subfrações, provavelmente se deve à distribuição não uniforme das apolipoproteínas e enzimas antioxidantes associadas (BISGAIER et al. 1985).

A atividade antioxidante observada nas partículas menores é resultante do sinergismo na inativação de lipídeos oxidados por mecanismos enzimáticos (BARTER et al. 2004). As HDL pequenas apresentam maior facilidade em migrarem para o espaço subendotelial, diminuindo a oxidação da LDL nas artérias, evidenciando propriedades físico-químicas

intrínsecas da HDL (RIBAS et al. 2004). No entanto, o tamanho da HDL tende a ser menor em indivíduos com elevadas concentrações de TAG, o que pode exercer efeito negativo na maturação da HDL e comprometer o TRC (TIAN et al. 2011).

A CETP confere efeito negativo na maturação da HDL que se torna mais suscetível à hidrólise e a catalisação na conversão de HDL grande em HDL pequena. Esse processo é mediado pelo aumento da concentração plasmática de TAG e atividade da lipase hepática, sendo associado ao maior risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (BARTER, 2000; RYE e BARTER 2004; JI et al. 2014).

Na revisão de MOVVA e RADER (2008) os autores destacam que ainda é controverso o efeito antiaterogênico atribuído às subfrações da HDL. No *Kupio Study and Quebec City Suburbs Study* observou-se associação inversa entre HDL2 e doença cardiovascular, enquanto que no *Physician's Health Study,* seguido pelo *Caerphilly Study*, a concentração de HDL3 foi forte preditora independente de proteção contra a aterosclerose. Os resultados dos estudos não fornecem dados conclusivos quanto à utilização das medidas das subfrações na estratificação do risco cardiovascular. Ainda, segundo os autores, as diferenças nos resultados podem ser atribuídas aos diferentes métodos de análise, a variações étnicas ou a heterogeneidade da subfrações.

Em 1951, LINDGREN et al. foram os primeiros a identificar 2 subfrações de HDL por ultracentrifugação analítica. A HDL2, que apresenta um intervalo de densidade de 1,063 - 1,125 g/mL, e compreende as partículas maiores, ricas em colesterol, e a HDL3, com intervalo de densidade de 1,125 - 1,210 g/mL, que compreende as partículas menores, pobres em lipídeos.

O método de VAP (*Vertical Auto Profile*) é uma técnica de ultracentrifugação analítica que separa todas as lipoproteínas em uma hora. Usa um rotor vertical no qual as lipoproteínas são separadas no lado do eixo horizontal mais curto do tubo de centrifugação, e não no eixo vertical mais longo, como em ultracentrifugação sequencial (KULKARNI, 2006).

As subfrações da HDL também podem ser obtidas com base no tamanho e carga pelo método de eletroforese em gel de gradiente de poliacrilamida não desnaturante (BLANCHE et al. 1981; ASZTALOS et al. 1993).

A ressonância magnética nuclear (RMN) mede o sinal de cada subfração a partir do número total de grupos terminais metila do lipídeo no interior das partículas. A amplitude de cada sinal serve como uma medida da concentração da lipoproteína. Usando equações padrão em relação ao diâmetro das lipoproteínas e lipídeos, os dados de RMN podem ser transformados (por meio de cálculos próprios) em concentrações das subfrações. Outras

informações quantitativas das subfrações, como tamanho/diâmetro e padrões, também podem ser obtidas através de cálculos adicionais. As partículas de HDL quantificadas por RMN são classificadas em concentração total de partículas de HDL (HDL-P), concentração total de partículas de HDL pequenas (HDL-P pequena), concentração total de partículas de HDL médias (HDL-P média) e concentração total de partículas de HDL grandes (HDL-P grande) (OTVOS et al. 2002; JEYARAJAH et al. 2006).

Embora existam métodos para avaliar as subfrações da HDL, o monitoramento da concentração de HDL-C permanece como rotina laboratorial para avaliação do perfil lipídico e compõe a maioria dos algoritmos de estimativa de risco cardiovascular em indivíduos adultos (FALUDI et al. 2017). Apesar disso, são crescentes as evidências sobre os mecanismos cardioprotetores adicionais associados à HDL, conforme descrito em diversos estudos. Esses mecanismos parecem modular o risco cardiovascular, independente do conteúdo de colesterol associado à partícula, embora sua utilização ainda não faça parte de nenhuma diretriz (TALL, 2008; VAN DER STOEP et al. 2014).

1.4. Algoritmos de predição de risco cardiovascular

A primeira manifestação das doenças cardiovasculares, na maioria dos casos é o evento coronariano (WILSON et al. 1998). Desta forma, é fundamental a estimativa do risco cardiovascular em indivíduos assintomáticos predispostos, a partir da somatória do risco associado a cada um dos fatores, mais a potenciação causada pelo sinergismo entre eles (**Figura 3**).

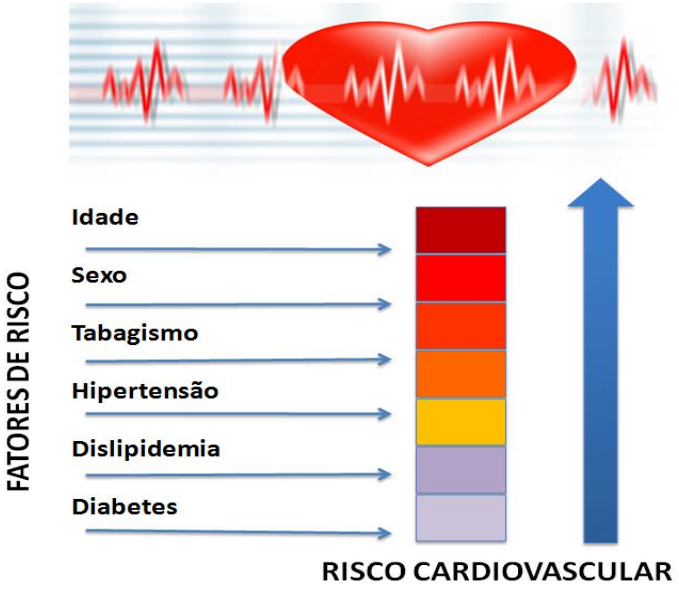


Figura 3. Estimativa do risco cardiovascular. **Fonte:** elaborada pela autora.

Contudo, as interações dos fatores podem subestimar ou superestimar os casos de maior ou menor risco (XAVIER et al. 2013). Baseando-se nesse pressuposto e em estudos populacionais, diversos algoritmos têm sido propostos.

Escore de risco de *Framingham* (ERF): projetado com base nos resultados do *Framingham Heart Study*, uma coorte iniciada em 1948, com uma amostra considerada pequena (menos de seis mil participantes), mas que permitiu estabelecer importantes relações de causalidade. Entretanto, o ERF apresenta algumas limitações, pois é uma ferramenta que utiliza medidas de quase meio século, e é provável que o risco tenha se alterado durante o tempo. Além disso, o risco absoluto nos participantes de *Framingham* não é necessariamente o mesmo em outras populações e alguns fatores de risco importantes como dieta, composição corporal e atividade física não são abordados no escore (LOTUFO, 2008; GREENLAND et al. 2001).

O ERF é o modelo de estratificação de risco mais conhecido e utilizado na estimativa da probabilidade de doença coronariana e foi descrito pioneiramente por WILSON et al. (1998), utilizando variáveis como idade, sexo, valores de pressão arterial sistólica (PAS), valores do colesterol total (CT), HDL-C, tabagismo e diagnóstico de diabetes mellitus (DM). O ERF estima a probabilidade de ocorrer infarto agudo do miocárdio (IAM) ou morte por doenças cardiovasculares em 10 anos, em indivíduos sem diagnóstico prévio de aterosclerose clínica, classificando-os em baixo risco (<10%), intermediário (10 a 20%) ou alto (>20%).

O ERF foi atualizado em 2008 por D'AGOSTINO et al., que apresentaram um algoritmo de predição de risco cardiovascular multivariado para cada sexo e que poderia ser convenientemente utilizado para estimar o risco geral de doenças cardiovasculares e risco de eventos individuais (doença cardiovascular coronariana, acidente vascular cerebral, doença arterial periférica e insuficiência cardíaca).

Em 2011, o ERF foi novamente atualizado por MOSCA et al., os autores abordaram a reclassificação do risco e prevenção de doenças cardiovasculares direcionada especificamente para as mulheres.

Escore de Risco de *Reynolds* (ERR): desenhado para estimar o risco de IAM, acidente vascular cerebral ou outro evento cardíaco maior em 10 anos, o ERR incorpora aos fatores usados no ERF (idade, sexo, CT, HDL-C, PAS e tabagismo), o valor da PCR e a história familiar (pai e mãe) precoce (antes dos 60 anos) de IAM, além do percentual de hemoglobina glicada, no caso dos diabéticos.

O escore foi desenvolvido e validado a partir dos dados do *Women's Health Study*, uma coorte americana composta por mulheres com idade ≥45 anos sem doença coronariana e

câncer no início do estudo (RIDKER et al. 2007). Um modelo para homens foi desenvolvido e validado em 2008, utilizando as mesmas variáveis do escore desenvolvido para mulheres, derivado do seguimento médio de 10,8 anos em indivíduos americanos inicialmente saudáveis e não diabéticos (RIDKER et al. 2008).

O ERR, que inclui a PCR, não exibe melhor calibração quando comparada a outros modelos. As medidas de intervenção que diminuem as concentrações plasmáticas de PCR (perda de peso, exercício, não fumar, uso de estatinas e fibratos) são conhecidas por diminuírem também o risco de eventos coronários (HELFAND et al. 2009).

Adult Treatment Panel III/2013 **(ATPIII/2013):** atualização publicada em 2014 pela *American Heart Association* e pela *American College of Cardiology* para o controle lipídico. Destaca o uso de estatinas para a prevenção primária e secundária de doença cardiovascular aterosclerótica em pacientes considerados de maior risco. Recomenda o uso de escore específico para estimar o risco de evento cardiovascular aterosclerótico em 10 anos, cujas variáveis são: sexo, idade, raça, concentrações séricas de CT e HDL-C, PAS e tratamento de hipertensão arterial sistêmica (HAS), tabagismo e DM.

Segundo a atualização, a concentração plasmática elevada de LDL-C deixa de ser o principal fator para determinar o uso das estatinas. Os critérios para classificação de risco cardiovascular da ATPIII/2013 identificam quatro grupos de pacientes (STONE et al. 2014):

- Portadores de doença cardiovascular aterosclerótica;
- Pacientes com elevações primárias de LDL-C ≥ 190mg/dL;
- Pacientes diabéticos, entre 40 e 75 anos, com LDL-C entre 70 e 189mg/dL;
- Pacientes com risco estimado de doença cardiovascular aterosclerótica ≥ 7,5% em 10 anos, com idade entre 40 e 75 anos, sem doença cardiovascular ou DM e com LDL-C abaixo de 190 mg/dL.

De acordo com PENCINA et al. (2014) a ATPIII/2013 pode superestimar o risco cardiovascular, o que levará ao aumento do uso de estatinas entre indivíduos saudáveis. Além disso, a estimativa do risco abrange apenas indivíduos com idade entre 40 e 75 anos, uma vez que as novas diretrizes são pouco claras fora deste intervalo.

A V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose recomenda 3 etapas para a estratificação do risco: a determinação da presença de doença aterosclerótica significativa ou de seus equivalentes; a utilização dos escores de predição do risco e a reclassificação do risco predito pela presença de fatores agravantes (XAVIER et al. 2013). Na atualização da V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose a

recomendação é a utilização do Escore de Risco Global (ERG), na avaliação inicial, ou mesmo na avaliação de pacientes em uso de estatinas, entre os indivíduos que não foram classificados nas situações de muito alto risco ou alto risco (FALUDI et al. 2017).

Além das variáveis clássicas que pontuam na estimativa do risco cardiovascular, novos biomarcadores e métodos de imagem vem sendo propostos, como o escore de cálcio na artéria coronária (escore da CAC), a espessura da camada íntima média da carótida e índice tornozelo braquial. Porém, ainda existem discussões quanto ao rastreio de indivíduos de baixo risco e qual a relação custo benefício nesse caso, assim como para indivíduos com alto risco, onde a indicação de uso de medicamentos é sempre necessária. Contudo para indivíduos com risco intermediário, o escore da CAC tem se mostrado a melhor opção a ser usada como adjuvante na estimativa do risco (DEGRELL et al. 2015).

Segundo a ATPIII/2013, alguns fatores de risco emergentes (história familiar, concentrações plasmáticas de PCR, escore da CAC e índice tornozelo braquial) podem ser considerados para tomada de decisões, quando, após a avaliação quantitativa dos riscos, uma decisão de tratamento é incerta (classe IIb, nível B) (GOFF et al. 2014). As diretrizes da Sociedade Europeia de Cardiologia permanecem em concordância e fornecem recomendações para utilização do escore da CAC, índice tornozelo braquial, espessura da camada íntima média da artéria coronária (classe IIa, nível B), concentrações plasmáticas de PCR (classe IIb, nível B) (PERK et al. 2012). Entretanto, segundo BJÖRNSON et al. (2016), uma abordagem ao nível de sistemas biológicos também poderia ser utilizada para melhorar os algoritmos de risco cardiovascular, permitindo uma predição de risco personalizada, a partir da aplicação de redes metabólicas em escala genômica, bem como outras abordagens baseadas em rede biológica, como transcriptômica, proteômica e metabolômica.

A revisão de GORENOI e HAGEN (2015) conclui que a partir de uma perspectiva clínica, parece ser mais viável a utilização de escores de estimativa de risco cardiovascular desenvolvidos especificamente para a população de interesse, que utilizam medidas acessíveis e mostram alta capacidade discriminatória. Escores calibrados e validados ou derivados de populações com incidência e distribuição de fatores de risco semelhantes podem ser a segunda escolha.

1.5. Calcificação da artéria coronária como preditor de aterosclerose subclínica

O diagnóstico precoce da aterosclerose subclínica possibilita o controle da inflamação e a estabilização da calcificação da artéria coronária (CAC), prevenindo a macrocalcificação e maior risco de ruptura da placa e eventos coronarianos (NAKAHARA et al. 2017). A progressão da CAC a partir da placa aterosclerótica é ilustrada na **Figura 4**.

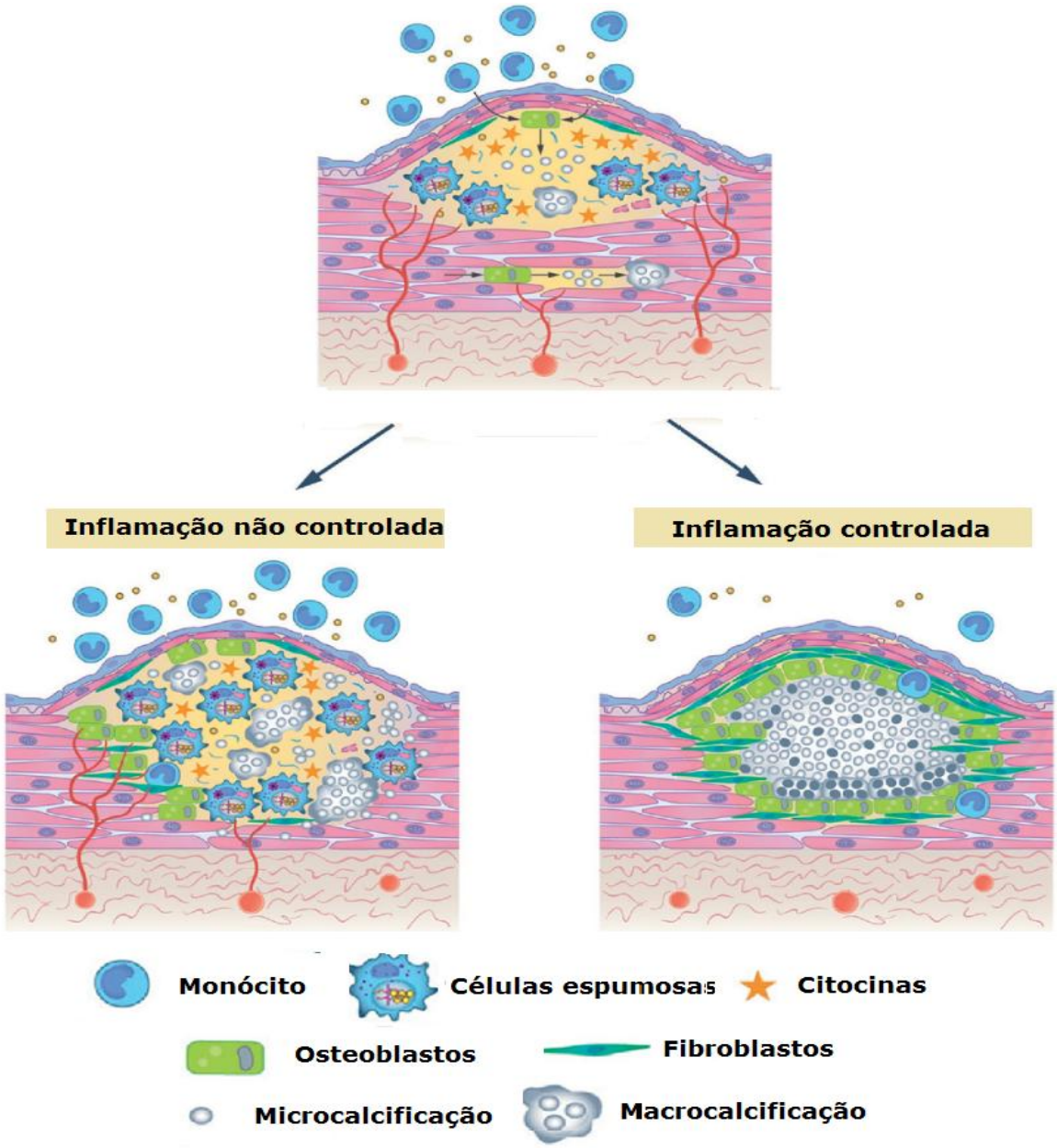


Figura 4. Progressão da calcificação da artéria coronária. **Fonte:** adaptado de NAKAHARA et al. 2017.

A CAC se inicia dentro do núcleo necrótico da placa aterosclerótica. Vesículas extracelulares são liberadas por macrófagos mortos e células musculares lisas (NEW et al. 2013). A concentração local de cálcio e fosfato livres atinge uma concentração suficiente para permitir a formação de cristais de fosfato de cálcio (KAPUSTIN et al. 2015).

Os cristais de fosfato de cálcio induzem a diferenciação de células endoteliais em osteoblastos, denominados calcificantes das células vasculares. O processo inflamatório crônico induz a apoptose de macrófagos e migração e proliferação de células musculares lisas vasculares, desencadeando inúmeras microcalcificações. As microcalcificações se acumulam em uma grande massa e se tornam calcificações irregulares. Este tipo de macrocalcificação está associado à instabilidade e ruptura da placa aterosclerótica e a ocorrência de eventos coronarianos. Entretanto, o controle da inflamação promove a estabilização da placa aterosclerótica (NAKAHARA et al. 2017).

A calcificação da artéria coronária, quantificada por tomografia computadorizada, é uma das medidas mais conceituadas no diagnóstico da aterosclerose subclínica. O cálcio da artéria coronária é considerado produto da exposição aos fatores de risco cardiovascular em longo prazo. Foi demonstrado que avaliar as medidas da CAC em indivíduos assintomáticos com risco intermediário é uma ferramenta que melhora o prognóstico e pode ser adjuvante na tomada de decisões para a prevenção primária de doença cardiovascular aterosclerótica (MARK et al. 2010; HISAMATSU et al. 2019).

De acordo com as diretrizes clínicas, as medidas do escore da CAC são úteis na estratificação do risco cardiovascular e sua utilização entre pessoas com escores de risco globais intermediários é indicada. A progressão da aterosclerose coronariana medida pela CAC se correlaciona bem com o risco cardiovascular, e indivíduos com medidas da CAC (Agatston Unidades) igual a zero demonstraram risco muito baixo de mortalidade (GREENLAND et al. 2007).

2. OBJETIVO

Desenvolver e validar um escore de funcionalidade da HDL (EFH) a partir de subamostras derivadas de dois estudos brasileiros e avaliar a sua associação com fatores de risco cardiovascular e aterosclerose subclínica.

3. METODOLOGIA

3.1. Delineamento do estudo

O presente estudo, com delineamento transversal, foi realizado em duas 2 etapas com dados amostrais derivados de estudos distintos. Na 1ª etapa foram selecionados dados do período basal do estudo CARDIONUTRI, utilizados no desenvolvimento e validação do escore de funcionalidade da HDL preditor de risco cardiovascular (EFH-RCV). Na 2ª etapa uma subamostra do período basal do estudo ELSA-Brasil foi selecionada para testar a associação do EFH-RCV com o risco cardiovascular e aterosclerose subclínica, assim como desenvolver e validar o EFH preditor de aterosclerose subclínica (EFH-AS).

3.2. Amostra do estudo CARDIONUTRI

Para o desenvolvimento e validação do EFH-RCV, uma subamostra do período basal do estudo principal intitulado "Propriedades físico-químicas da LDL e da HDL, marcadores cardiometabólicos e oxidativos podem ser modulados pelo consumo de ômega-3, ômega-6 e ômega-9 em indivíduos com risco cardiovascular intermediário?" (CARDIONUTRI) foi selecionada. O estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética do Hospital Universitário (**Anexo 1**) e da Faculdade de Saúde Pública (**Anexo 2**) vinculados à Universidade de São Paulo. O projeto foi financiado pela FAPESP (Processo nº 2011/12523-2), Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fluídos Completos (INCT-FCx 2010-2014) e do Núcleo de Apoio à Pesquisa de Fluídos Complexos (NAP-FCx 2011-2016).

O estudo CARDIONUTRI foi um ensaio clínico randomizado aprovado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (**RBR-2vfhfv**). A sua amostra foi composta por participantes elegíveis selecionados a partir de meios de comunicação internos do Hospital Universitário, vinculado a Universidade de São Paulo e na comunidade da região do Butantã.

Foram considerados elegíveis para o estudo indivíduos de ambos os sexos, com idade de 30 a 74 anos e com pelo menos um dos seguintes fatores de risco para doença cardiovascular: HAS, DM, DLP, tabagismo ou obesidade.

Foram considerados não elegíveis para o estudo indivíduos que apresentaram as seguintes características: evento cardiovascular prévio, portadores de doenças agudas ou crônicas graves, usuários de drogas ilícitas e alcoolistas. Indivíduos desnutridos, grávidas

ou lactantes e indivíduos que participavam de outros protocolos de pesquisa também não forma incluídos no estudo. A presença de eventos cardiovasculares prévios foi monitorada pela avaliação clínica e eletrocardiograma (ECG), assim como pelo autorrelato no momento da triagem.

Os indivíduos com características de interesse para o estudo foram selecionados e passaram pelo processo de esclarecimento assim como a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (**Anexo 3**). Os participantes foram identificados e caracterizados a partir de questionários socioeconômico, demográfico e clínico e avaliados por mensuração de parâmetros antropométricos e coleta de sangue.

Todos os procedimentos de coleta de amostras, análises e divulgação dos resultados seguiram as Normas do Conselho Nacional de Saúde, no que se refere à ética com pesquisas em seres humanos.

3.3. Amostra do estudo ELSA-Brasil

Para testar a reprodutibilidade do EFH-RCV, desenvolvido na 1ª etapa do estudo, e desenvolver o EFH preditor de aterosclerose subclínica (EFH-AS), uma subamostra do período basal do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil) foi selecionada.

O estudo ELSA-Brasil é um estudo de coorte em andamento, que investiga associações entre as doenças crônicas, e seus fatores biológicos, comportamentais, ambientais, ocupacionais e sociais, financiado pelo Ministério da Saúde e Ministério de Ciência e Tecnologia (Processos nº 01 06 0010.00 RS, 01 06 0212.00 BA, 01 06 0300.00 ES, 01 06 0278.00 MG, 01 06 0115.00 SP, 01 06 0071.00 RJ) e aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP – n° 13065).

O período basal da pesquisa foi realizado entre 2008 e 2010 incluindo 15.105 funcionários com idade entre 30 e 74 anos, ativos e aposentados de cinco Universidades e um Instituto de Pesquisa: Universidade Federal da Bahia (UFBA), Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Universidade de São Paulo (USP) e Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Não foram incluídos no estudo: grávidas, servidores com intenção de deixar o emprego num futuro próximo, dificuldade de comunicação ou deficiência cognitiva severa, ou dificuldade de locomoção por residir fora das metrópoles onde se localizam os centros de pesquisa correspondentes.

Os participantes elegíveis foram selecionados e passaram pelo processo de esclarecimento do estudo. Após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido os participantes foram identificados e caracterizados a partir de questionários socioeconômico, demográfico e clínico, mensuração de parâmetros antropométricos, coleta de sangue e exames ECG e tomografia computadorizada com medidas do escore da CAC para detectar doenças cardiovasculares prévias. O contato com os participantes é realizado anualmente, por telefone, para avaliar o estado de saúde, e entrevistas e novos exames são realizados a cada 3 ou 4 anos. Todos os procedimentos de coleta e análise de dados foram padronizados e estão descritos nos manuais do ELSA-Brasil, assim como mais detalhes sobre o perfil da amostra (AQUINO et al. 2012; SCHMIDT et al. 2015).

4. DISCUSSÃO

No presente estudo foram desenvolvidos e validados dois escores, incorporando a intensidade das alterações de um conjunto de dados relacionados aos parâmetros de funcionalidade da HDL associados ao risco cardiovascular e a aterosclerose subclínica, ampliando o atual estado da arte relativo ao tema.

O escore de funcionalidade da HDL preditor de risco cardiovascular (EFH-RCV) com dados do estudo CARDIONUTRI e o escore de funcionalidade da HDL preditor de aterosclerose subclínica (EFH-AS) com dados do estudo ELSA-Brasil.

Estudos epidemiológicos e genéticos recentes sugerem que o aumento da concentração plasmática de HDL-C pode não ser preditivo independente de saúde cardiovascular para todos os indivíduos (SILBERNAGEL et al. 2013; VOIGHT et al. 2012; ANGELONI et al. 2013). O poder preditivo do HDL-C no risco cardiovascular pode estar diminuído, quando existe a influência de outros fatores alterados, como, por exemplo, aumento da LDL-C ou do TAG (BARLETT et al. 2016).

Ressalta-se que embora muito bem estabelecido o consenso sobre a associação inversa entre o HDL-C e o risco de doenças cardiovasculares (WILSON et al. 1988; GORDON et al. 1989), a causalidade entre essa associação foi questionada quando a intervenção farmacológica focada no aumento do conteúdo de colesterol na HDL não comprovou benefícios em ensaios clínicos randomizados, além de se associar ao aumento da mortalidade em outro estudo (KEENE et al. 2014; BARTER et al. 2007).

Resultados de uma coorte com mais de 100 mil participantes demonstraram a associação em U do HDL-C e o aumento da mortalidade por todas as causas em adultos de ambos os sexos, ou seja, a redução ou aumento extremo do HDL-C, parecem influenciar a funcionalidade da lipoproteína (MADSEN et al. 2017).

Contudo, os resultados são controversos, o HDL-C extremo foi avaliado em 9800 participantes do estudo ELSA-Brasil, quanto à associação com a espessura da camada intima média da carótida, e apesar das evidências de que o aumento extremo do colesterol na HDL pode ter características aterogênicas, pelo perfil disfuncional das partículas, nesse estudo, o grupo com HDL extremo > 90 mg/dL foi associado a menor espessura da camada intima da artéria (LAURINAVICIUS et al. 2016).

A APOAI é a principal apolipoproteína da HDL, citada pelo seu papel cardioprotetor e por ser a principal mediadora no transporte reverso do colesterol. Estudos experimentais demonstraram que a HDL inibe o desenvolvimento da aterosclerose e até mesmo promove a regressão da placa aterosclerótica, sendo grande parte da função antiaterogênica da lipoproteína atribuída a APOAI que participa da biogênese, remodelação, função antioxidante e sinalização da HDL (SUC et al. 1997; TANGIRALA et al. 1999; WILHELM et al. 2010).

A partir dos resultados de estudos experimentais que comprovaram o papel da APOAI na redução da progressão da aterosclerose, uma infusão intravenosa composta por APOAI e fosfolipídeos é investigada desde a década de 90, como uma abordagem na redução da placa aterosclerótica (DARABI et al. 2016). A infusão aumentou acentuadamente a capacidade de efluxo de colesterol da HDL, porém a associação com a redução de eventos cardiovasculares ainda não foi avaliada (GIBSON et al. 2016)

Segundo dados de uma meta-analise publicada em 2013, entre os pacientes tratados com estatina, os níveis de APOAI se associaram fortemente com a redução do risco cardiovascular, independente do conteúdo de HDL-C, sugerindo que a APOAI seja um biomarcador de risco cardiovascular independente (BOEKHOLDT et al. 2013).

Em contrapartida, os resultados de uma coorte com mais de 17 mil participantes, publicados em 2017, demonstraram que a concentração de APOAI não oferece informação adicional ao conteúdo de HDL-C em relação ao risco cardiovascular (VAN CAPELLEVEEN et al. 2017).

Em virtude do cenário atual, torna-se necessário conhecer as características funcionais adicionais da HDL, além do conteúdo de colesterol e APOAI na partícula. Portanto, no presente estudo avaliamos a atividade da CETP e da PON1, a capacidade antioxidante da HDL e as subfrações da lipoproteína, que parecem modular o risco cardiovascular e a

progressão da aterosclerose, conforme descrito previamente (KAJANI, et al. 2018; PIRILLO et al. 2013; CAMONT et al. 2011).

A CETP participa da interação entre as lipoproteínas circulantes, transferindo TAG para a HDL em troca de ésteres de colesterol, que são transferidos para lipoproteínas aterogênicas. O aumento do conteúdo de TAG plasmático aumenta a atividade da CETP e a atividade da lipase lipoproteica o que acelera a hidrólise da HDL grande com consequente redução do HDL-C. Diante do papel deletério da CETP no transporte reverso do colesterol, acreditava-se que o aumento da atividade da proteína poderia estar associado ao aumento do risco cardiovascular (BRUCE et al. 1998; TALL, 1993).

A mutação genética que inibe a atividade da CETP foi associada ao aumento de HDL-C, à redução do LDL-C e menor risco de doença coronária, em uma coorte com mais de 10 mil participantes, sugerindo que a inibição farmacológica da CETP poderia ser benéfica (AGERHOLM-LARSEN et al. 2000).

Os estudos iniciais testando o fármaco Torcetrapib como inibidor da CETP demonstraram que a redução da atividade da proteína poderia estar associada ao aumento do risco cardiovascular e da mortalidade (BARTER et al. 2007). Em um estudo publicado em 2012, a deficiência genética da atividade da CETP foi associada à redução do risco cardiovascular (JOHANNSEN et al. 2012).

No estudo REVEAL, com aproximadamente 31 mil participantes, o Anacetrapib, mais recente inibidor da CETP, reduziu em 9% os eventos cardiovasculares em relação ao placebo tratado com atorvastatina (BOWMAN et al. 2017).

Os resultados controversos dos estudos que avaliam as mutações genéticas na CETP e o uso de fármacos inibidores da proteína são abordados em recentes revisões bibliográficas e os autores concluem que apesar da considerável promessa inicial, o benefício do uso dos fármacos permanece inconclusivo e os resultados são insuficientes na tomada de decisões sobre a sua indicação na prática clínica (HU e WALKER, 2017; BARTER e RYE et al. 2018; ARMITAGE et al. 2019).

A PON1 é uma enzima antioxidante presente na HDL que hidrolisa peróxidos de lipídeos, protegendo a LDL de modificações oxidativas que tornam a partícula mais aterogênica. Estudos experimentais e ensaios clínicos descreveram que os efeitos antiaterogênicos e cardioprotetores da fração HDL parecem estar relacionados à atividade antioxidante da PON1 (KARABINA et al. 2005). No entanto, apesar da redução da atividade da PON1 observada em pacientes com eventos cardiovasculares, hipercolesterolemia e alterações metabólicas, em uma meta-analise publicada recentemente os autores concluem

que a associação inversa entre atividade da PON1 e as doenças cardiovasculares é parcialmente dependente dos níveis de HDL-C (KUNUTSOR et al. 2016).

Ressalta-se que o método *Lag time* utilizado no presente estudo para avaliar a capacidade da HDL em retardar a oxidação da LDL é pouco explorado para esse fim. Os estudos são escassos e não avaliam a associação da capacidade antioxidante da HDL com o risco cardiovascular.

Entretanto, um estudo experimental utilizou o método *Lag time* para avaliar a capacidade antioxidante da HDL em placas carótidas humanas *in vitro* e demonstrou que a lipoproteína não retardou a oxidação acelerada da LDL (COHEN et al. 2015).

Em um estudo multicêntrico a capacidade antioxidante da HDL foi calculada pelo índice inflamatório como indicador da capacidade antioxidante, e o índice foi menor entre os pacientes que apresentaram IAM quando comparado aos seus controles que foram pareados por sexo e idade (DISTELMAIER et al. 2015).

A atividade da CETP e a atividade da PON1, não foram associadas ao risco cardiovascular no presente estudo, assim como os parâmetros do método *Lag time* que mensurou a capacidade antioxidante da HDL. No estudo ELSA-Brasil, essas variáveis não foram avaliadas, portanto não foi possível estabelecer uma associação com a aterosclerose subclínica. Apesar do papel biológico desses parâmetros no metabolismo e funcionalidade da HDL, a relação com o risco cardiovascular permanece inconclusiva e os resultados disponíveis na literatura científica são controversos, assim como no presente estudo.

Contudo, as subfrações da HDL foram associadas ao risco cardiovascular e a aterosclerose subclínica. No estudo CARDIONUTRI as subfrações da HDL foram avaliadas pelo método padronizado Lipoporint® baseado na eletroforese em gel de poliacrilamida 3D e o grupo com maior risco apresentou associação positiva com a HDL pequena e associação inversa com a HDL grande. No estudo ELSA-Brasil, os resultados foram semelhantes, exceto para HDL-3, avaliada pelo método VAP, que apresentou associação inversa com a aterosclerose subclínica.

Existem vários métodos para separar as subfrações das lipoproteínas, e a incorporação dessas medidas poderá melhorar a previsão de risco cardiovascular, porém poucos artigos comparam a concordância entre os métodos. Segundo CHUNG et al. (2009), o intervalo entre as concordâncias das medidas das subfrações avaliadas por metodologias distintas ainda é muito grande (7% a 94%), e a falta de um “padrão ouro”, referência na análise das subfrações das lipoproteínas, impossibilita a validação dos métodos atuais.

Diversos estudos demonstram que as subfrações da HDL se associam a eventos cardiovasculares, independente do conteúdo de HDL-C, contudo, os resultados permanecerem controversos em relação a qual subfração é mais associada à proteção ou ao risco cardiovascular (PIRILLO et al. 2013; SUPERKO et al. 2012).

Em uma coorte com 591 participantes, a análise de sobrevida demonstrou a associação inversa entre a HDL grande, avaliada pelo método Lipoprint®, e a ocorrência de eventos coronarianos, sem diferenças nas concentrações plasmáticas de HDL-C e HDL pequena (LI et al. 2016).

TOTH et al. (2018) avaliaram a relação entre o colesterol das subfrações das lipoproteínas, avaliadas pelo método VAP, e o risco residual de desfechos cardiovasculares na população do estudo AIM-HIGH (*Atherothrombosis Intervention in Metabolic Syndrome with Low HDL/High Triglyceridesand Impact on Global Health Outcomes*). De acordo com resultados anteriores, a redução dos eventos cardiovasculares em pacientes com aterosclerose estável, após a inclusão da niacina de liberação prolongada ao tratamento com sinvastatina foi obervada em pacientes com níveis elevados de TAG e muito baixos de HDL-C. Segundo os autores, nesse subgrupo (n=169), os participantes que apresentaram maiores concentrações de colesterol na HDL2 demonstraram risco cardiovascular reduzido, independente do conteúdo de HDL-C.

Na coorte de CATHGEN as subfrações da HDL foram avaliadas pelo método de RMN em mais de 7000 participantes e a concentração de HDL-P pequena foi associada inversa e independentemente com o de risco cardiovascular e mortalidade (MCGARRAH et al. 2016).

Na amostra do estudo CARDIONUTRI a HDL grande melhorou em mais de 4% a estatística C na predição do risco cardiovascular, enquanto que a HDL-C melhorou 2,2% e a HDL pequena 1,8%. Embora a HDL pequena e o HDL-C tenham se associado ao risco cardiovascular, a HDL grande manteve a associação mais forte, portanto, foi o parâmetro de funcionalidade escolhido para o desenvolvimento do EFH-RCV.

Os resultados demonstrados no presente estudo estão de acordo com os dados apresentados na literatura científica, que descrevem a capacidade antioxidante da HDL como uma função promissora da HDL pequena, porém, estabelecem fatos mais concretos no que se refere à eficácia da HDL grande no efluxo do colesterol, descrito como o mecanismo cardioprotetor mais tradicional da partícula em diversos estudos (KONTUSH et al. 2006; CUCHEL et al. 2006; KONTUSH 2015).

As partículas pequenas da HDL são citadas na literatura por sua potencial capacidade antioxidante, devido à disposição das enzimas presentes na partícula que promovem o efluxo

de produtos de oxidação lipídica dos macrófagos via ABCG1, prevenindo a oxidação da LDL. O efluxo dos produtos de oxidação lipídica inibe a produção das espécies reativas de oxigênio pelas células endoteliais das artérias, inibindo a disfunção endotelial (TERASAKA et al. 2008).

A afinidade da HDL grande com os receptores de colesterol ABCA1 e SRB1 conferem a essa subfração maior eficácia no transporte reverso do colesterol. Os receptores ABCA1 são mediadores do efluxo do colesterol de células periféricas e macrófagos, e os receptores SRB1, recebem o colesterol transportado pela HDL no fígado para síntese de sais biliares, ou excreção, evitando o acúmulo nos tecidos, inclusive nos macrófagos presentes na parede das artérias, contribuindo com a redução da progressão das placas ateroscleróticas (DE LA LLERA-MOYA et al. 2010).

Segundo KONTUSH (2015), a relação inversa entre a HDL grande e a doença cardiovascular é mais consistente quando as subfrações são separadas por eletroforese. A HDL grande circulante avaliada pelo método de eletroforese foi associada à redução do risco cardiovascular em diversos estudos, assim como os níveis plasmáticos de HDL pequenas são frequentemente elevadas em pacientes com doenças cardiovasculares. Os estudos ainda ressaltam o poder discriminatório superior da HDL grande em prever o risco cardiovascular quando comparada ao HDL-C.

Em um estudo transversal com 431 participantes, que avaliou as subfrações da HDL utilizando o método Lipoprint®, as concentrações de HDL pequena foram maiores no grupo com doença cardiovascular, quando comparado aos seus controles (XU et al. 2015). Em outro estudo transversal que avaliou a influência da DM no perfil das subfrações das lipoproteínas, pelo método Lipoprint®, em 126 pacientes com síndromes coronarianas agudas, os autores demonstraram a maior circulação de partículas de HDL pequenas e intermediárias entre os diabéticos (KIDAWA et al. 2018).

ASZTALOS et al. (2004) avaliaram o perfil da HDL, analisado por eletroforese em gel bidimensional, em cerca de 1800 homens participantes do estudo *Framingham Offspring Study* e demonstraram que cada mg/dL no aumento na concentração de α1 HDL (HDL grande) foi associada a redução de 26% no risco de doença cardiovascular, enquanto que cada mg/dL no aumento do HDL-C foi associada a apenas 2% na redução do risco, em modelos ajustados para outros fatores de risco pré-estabelecidos.

A associação entre as subfrações da HDL e aterosclerose em 256 mulheres na pós-menopausa com eventos cardiovasculares, participantes da coorte *Estrogen Replacement and Atherosclerosis* (ERA) em relação a 126 mulheres saudáveis. As subfrações foram analisadas

pelo método de eletroforese e os autores demonstraram que as concentrações plasmáticas de pré-β1 HDL (HDL pequena) foram maiores e as concentrações de α1 HDL e α2 HDL (HDL intermediária e HDL grande) foram menores nas mulheres com doenças cardiovascular, quando comparado aqueles livres de doenças cardiovasculares. Assim como o aumento de pré-β1 HDL e a redução de α2 HDL foram associadas maior extensão da aterosclerose, avaliada pelo diâmetro da artéria carótida, e as análises foram ajustadas por outros fatores de risco (LAMON-FAVA et al. 2008).

Em um estudo transversal, com cerca de 6500 participantes da famosa coorte MESA (*The Multi Ethnic Study of Atherosclerosis*), os pesquisadores avaliaram a associação das partículas maiores de HDL, avaliadas pelo método de RMN, e a espessura da camada íntima da artéria. Os autores avaliaram a HDL-P pequena e a HDL-P intermediária em conjunto, assumindo como as menores partículas da HDL. As duas subfrações em conjunto foram inversamente associadas com ao aumento da espessura da camada intima da artéria, assim como a HDL-P grande. Porém a HDL-P grande não manteve a associação após os ajustes (KIM et al. 2016).

Embora diversos estudos apresentem resultados relacionados às partículas intermediárias da HDL, em testes de concordância elas são as subfrações da HDL que apresentam maiores discordâncias entre os métodos e em relação ao risco cardiovascular (CHUNG et al. 2009). Além disso, os mecanismos cardioprotetores apresentados na literatura científica em diversas revisões abordam apenas o papel das partículas pequenas e grandes da HDL (CAMONT et al. 2011; PIRILLO et al. 2013; KONTUSH et al. 2015; KAJANI et al. 2018).

A amostra do estudo ELSA-Brasil foi classificada quanto aos pontos de corte pré-estabelecidos na etapa de desenvolvimento do EFH-RCV. O estudo ELSA-Brasil avaliou as subfrações da HDL por dois métodos distintos, portanto, o cálculo do escore foi realizado e o seu desempenho testado com as medidas de ambos os métodos. Na prática clínica, a hipótese de que, independente da origem das medidas, as ferramentas diagnósticas devem manter o bom desempenho discriminatório é fundamental para garantir a classificação correta dos indivíduos.

No presente estudo, o desempenho do EFH-RCV foi mantido na amostra do estudo ELSA-Brasil, mesmo quando calculado com subfrações da HDL derivadas de dois métodos diferentes, supondo que a sua reprodutibilidade seja satisfatória em outras amostras, independente da origem dos dados.

O EFH-RCV (EFH-VAP e EFH-RMN) apresentou correlação com o ERF%, com o escore da CAC e com os parâmetros de funcionalidade da HDL.

A eficácia do escore da CAC no diagnóstico da aterosclerose subclínica é demonstrada em outros estudos, a partir do pressuposto que suas medidas são equivalentes à carga aterosclerótica coronariana global, sendo recomendado por diretrizes como marcador independente de risco cardiovascular (BUDOFF et al. 2006; GREENLAND et al. 2007; FALUDI et al. 2017).

A *American Heart Association* recomenda o escore da CAC no monitoramento da aterosclerose em pacientes assintomáticos com risco intermediário (10% a 20%) de eventos cardiovasculares em 10 anos, calculado pelo ERF, assim como para indivíduos assintomáticos com mais de 40 anos ou com DM. Porém para pacientes com baixo risco (<10%) ou alto risco (>20%) as medidas da CAC não são recomendadas. Nas definições propostas para quantificar as medidas da CAC e a carga aterosclerótica, o escore da CAC > 0 já indica a presença de aterosclerose subclínica (GREENLAND et al. 2010).

O diagnóstico de sinais subclínicos na fase inicial da aterosclerose é de suma importância na prevenção dos eventos coronarianos, pois permite uma classificação adequada do risco cardiovascular e a identificação de grupos com necessidade de estratégias preventivas mais urgentes, visto que a aterosclerose é uma doença silenciosa que pode ser fatal ou altamente limitante aos primeiros sintomas (WILSON et al. 1998).

O tamanho da HDL apresentou a associação mais forte com o escore da CAC > 0, portanto foi o parâmetro escolhido como referência no desenvolvimento do EFH-AS.

O tamanho da HDL pode ser avaliado como parâmetro de funcionalidade da HDL e frequentemente apresenta associação inversa com o risco cardiovascular. Essa medida pode ser analisada pelo método de RMN, como foi o caso no presente estudo, assim como por mobilidade iônica (KONTUSH et al. 2015).

Em um estudo caso-controle, o tamanho e a concentração de partículas da HDL foram avaliados, pelos métodos de RMN e eletroforese, como parte dos parâmetros de funcionalidade em mais de 2000 participantes da coorte *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*. Os autores demonstraram que ambos, tamanho da HDL e a concentração HDL-P total foram associados à redução de doenças cardiovasculares e outros fatores de risco cardiovascular. Porém o tamanho da HDL foi explicado por marcadores relacionados à síndrome metabólica, pois a associação não se manteve após os ajustes (EL HARCHAOUI et al. 2009).

No estudo caso-controle de ARSENAULT et al. (2009) o tamanho das partículas de HDL foi avaliado por eletroforese em gel de poliacrilamida não-desnaturante com dados prospectivos de uma coorte. A associação do tamanho da HDL com o risco de doença cardíaca coronária incidente foi avaliada entre os participantes que apresentaram eventos e que não apresentaram eventos após o período de seguimento. Os autores concluíram que a redução no tamanho da HDL foi associada ao maior risco cardiovascular. A concentração de HDL pequena também se associou ao maior risco, porém essa associação não foi independente dos fatores de risco tradicionais.

O método de RMN fornece diversas informações relacionadas às subfrações da HDL, dentre elas o tamanho das partículas distribuído em 3 subfrações: HDL-P grande, o tamanho das partículas varia de 9,4 a 14,0 nm, HDL-P média, de 8,3 a 9,3 nm e HDL-P pequena, de 7,3 a 8,2 nm, além de fornecer o total de HDL-P e o tamanho das partículas (OTVOS, 2002).

O total de HDL-P é descrito em diversos estudos como preditor independente de risco cardiovascular, mantendo associação inversa mais relevante quando comparado ao conteúdo de HDL-C (KONTUSH et al. 2015). Porém, no presente estudo, o total de HDL-P total foi associado à aterosclerose subclínica, apresentando associações menos consistentes em relação às associações observadas entre os demais parâmetros de funcionalidade da HDL e a aterosclerose subclínica. A HDL-P total foi a única variável que não se correlacionou com nenhum dos escores (CAC, ERF e EFH-RCV) na amostra do estudo ELSA-Brasil, todos os outros parâmetros apresentaram correlações significativas.

Segundo CAMONT et al. (2011) as subfrações específicas da HDL parecem sustentar associações mais forte com o risco cardiovascular, quando comparadas ao total de partículas, visto que as partículas da HDL são muito heterogêneas em sua estrutura e funcionalidade distintas.

A HDL-P grande, avaliada pelo método de RMN, geralmente apresenta associação inversa com o risco cardiovascular em análises univariadas, enquanto que a HDL-P pequena apresenta correlações positivas (KONTUSH et al. 2015). Os resultados são consistentes com o presente estudo, entretanto a HDL-P grande apresentou associação em análises univariadas e múltiplas.

Em um estudo prospectivo que acompanhou cerca de 2900 participantes a HDL-P total e a HDL-P pequena, avaliadas pelo método de RMN, foram inversamente associadas às doenças cardiovasculares e a mortalidade por doenças cardiovasculares, além de melhorar o poder preditivo do HDL-C em modelos múltiplos (SILBERNAGE et al. 2017).

A associação entre a concentração de HDP-P total e a aterosclerose foi avaliada pelo método de RMN, em um estudo de corte transversal, com 402 indivíduos de idade avançada, participantes da coorte *Chicago Healthy Aging Study*. A HDL-P total apresentou correlação inversa com as placas na carótida, enquanto que o tamanho das partículas da HDL não foi associado (MUTHARASAN et al. 2017).

BASU et al. (2015) avaliaram as subfrações da HDL, avaliadas pelo método de RMN em 425 participantes de uma coorte com seguimento de 12 anos para observar a associação das partículas com a espessa da camada intima da artéria. Entre os homens, o tamanho das partículas da HDL e a HDL-P grande apresentaram associação inversa com o espessamento da camada intima da artéria, entre as mulheres as associações não foram significativas.

De acordo com os estudos apresentados na literatura científica, as associações do tamanho da HDL e da HDL-P grande com risco cardiovascular se perdem após os ajustes, e a HDL-P total é descrita como melhor preditor de risco cardiovascular.

As subfrações da HDL avaliadas pelo método VAP no presente estudo apresentaram resultados consistentes com os resultados apresentados em estudos anteriores, com associação inversa da HDL2 e HDL3 com o risco cardiovascular e aterosclerose subclínica.

O método VAP é baseado em ultracentrifugação e separação das lipoproteínas a partir da densidade, separando 2 subfrações da HDL. A ultracentrifugação analítica foi a metodologia original utilizada por LINDGREN et al. (1972) para separar as subfrações da HDL no plasma em partículas com densidade de aproximadamente 1,075 g/mL (HDL2) menos densas e 1,12 g/mL (HDL3) com mais conteúdo de colesterol. Porém, alguns anos depois, BLANCHE et al. (1981) mostraram que a partícula de HDL é composta por subfrações distintas, adicionais aquelas observadas no método de ultracentrifugação, com diferentes mobilidades eletroforéticas em gel de poliacrilamida com gradiente de separação não desnaturante.

SUPERKO et al. (2012) avaliaram 80 artigos que analisaram as subfrações da HDL por diversos métodos e concluíram que a ultracentrifugação apresenta capacidade inferior de diferenciar o potencial cardioprotetor entre HDL3 e a HDL2, em relação aos diversos métodos disponíveis. Os autores destacam que a caracterização mais detalhada das partículas de HDL por métodos de eletroforese em gel de uma ou duas dimensões ou pelo método de RMN podem fornecer informações mais específicas sobre a associação das subfrações com o risco de doença coronariana quando comparado a simples dosagem do HDL-C ou da HDL2 e HDL3.

Em um estudo de prevenção secundária, que avaliou as subfrações das lipoproteínas de quase 5000 participantes com IAM e angiografia coronariana, provenientes de 2 coortes, utilizando o método VAP, o risco aumentado de eventos clínicos duradouros a longo prazo foi associado a redução da concentração plasmática da HDL3, porém não foi associado as concentrações de HDL2 ou HDL-C (MARTIN et al. 2015).

JOSHI et al. (2016) avaliaram a associação das subfrações da HDL2 e HDL3, analisadas pelo método VAP, com a incidência de doenças cardiovasculares, em mais de 4000 participantes dos estudos *The Jackson Heart* e *Framingham Offspring Cohort Stuides* e descrevem a associação inversa entre as concentrações plasmáticas de HDL3 e os eventos coronarianos.

Alguns artigos que já avaliaram as subfrações das lipoproteínas na amostra do estudo ELSA-Brasil demonstraram resultados consistentes com os do presente estudo e com os dados da literatura. Na amostra do estudo ELSA-Brasil, as duas subfrações da HDL analisadas pelo método VAP (HDL2 e HDL3) apresentaram associação inversa com fatores relacionados à síndrome metabólica, espessura da camada média íntima da artéria, principalmente entre os diabéticos, e com o aumento da circunferência do pescoço (GENEROSO et al. 2018; ALMEIDA-PITITTO et al. 2018).

Estudos epidemiológicos e ensaios clínicos sugerem que as diferenças metodológicas parecem explicar as discordâncias observadas em relação à associação das subfrações da HDL com as doenças cardiovasculares. Enquanto algumas metodologias avaliam as concentrações das subfrações, outras descrevem o percentual de distribuição em relação ao total de partículas ou a distribuição das subfrações a partir do tamanho. A densidade é avaliada por alguns métodos, as proteínas em outros, assim como os sinais dos grupos metila dos lipídeos. A diversidade dos resultados disponíveis, em conjunto com a heterogeneidade da HDL, pode dificultar a avaliação especifica da sua composição e a relação de cada componente com o risco cardiovascular ocasionando interpretações equivocadas e resultados controversos (CAMONT et al. 2011; KONTUSH et al. 2015; MATERA et al. 2017).

4. CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo demonstram que o EFH é superior ao HDL-C como preditor independente de risco cardiovascular. As partículas grandes da HDL são mais eficazes em prever o risco cardiovascular e aterosclerose subclínica, provavelmente por sua contribuição no efluxo do colesterol, que deve ser foco para o planejamento de metas terapêuticas individualizadas e para o manejo de medicamentos. A inclusão das subfrações da HDL como novo biomarcador de risco cardiovascular deve ser estrategicamente avaliada em estudos futuros como parte das equações na predição de eventos coronarianos. A avaliação de fatores de risco tradicionais em conjunto com parâmetros de funcionalidade foi superior, em vista do desempenho e reprodutibilidade do EFH, portanto a incorporação desse parâmetro na prática clínica deve ser otimizado como ferramenta adjuvante na estratificação de grupos de risco com necessidades de estratégias para prevenção primária e secundária mais urgentes. Os métodos disponíveis para avaliar as subfrações devem ser validados a partir de um padrão ouro, para a padronização e introdução das medidas na prática clínica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADORNI, M. P. et al. The roles of different pathways in the release of cholesterol from macrophages. **J Lipid Res,** v. 48, n. 11, p. 2453-62, Nov 2007.

AGERHOLM-LARSEN, B. et al. Elevated HDL cholesterol is a risk factor for ischemic heart disease in white women when caused by a common mutation in the cholesteryl ester transfer protein gene. **Circulation,** v. 101, n. 16, p. 1907-12, Apr 2000.

ALAGONA, P.; AHMAD, T. A. Cardiovascular disease risk assessment and prevention: current guidelines and limitations. **Med Clin North Am,** v. 99, n. 4, p. 711-31, Jul 2015.

ALMEIDA-PITITTO, B. et al. Neck circumference is associated with non-traditional cardiovascular risk factors in individuals at low-to-moderate cardiovascular risk: cross-sectional analysis of the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). **Diabetol Metab Syndr,** v. 10, p. 82, 2018.

ANAGNOSTIS, P. et al. Effects of menopause, gender and age on lipids and high-density lipoprotein cholesterol subfractions. **Maturitas,** v. 81, n. 1, p. 62-8, May 2015.

ANDRIOLO, A. et al. Sociedade Brasileira de Patologia Clínica / Medicina Laboratorial para coleta de sangue. 1ª Ed. **Editora Manole.** São Paulo:2005.

ANGELONI, E. et al. Lack of protective role of HDL-C in patients with coronary artery disease undergoing elective coronary artery bypass grafting. **Eur Heart J,** v. 34, n. 46, p. 3557-62, Dec 2013.

AQUINO, E. M. et al. Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil): objectives and design. **Am J Epidemiol,** v. 175, n. 4, p. 315-24, Feb 2012.

ARMITAGE, J.; HOLMES, M. V.; PREISS, D. Cholesteryl Ester Transfer Protein Inhibition for Preventing Cardiovascular Events: JACC Review Topic of the Week. **J Am Coll Cardiol,** v. 73, n. 4, p. 477-487, Feb 2019.

ARSENAULT, B. J. et al. HDL particle size and the risk of coronary heart disease in apparently healthy men and women: the EPIC-Norfolk prospective population study. **Atherosclerosis,** v. 206, n. 1, p. 276-81, Sep 2009.

ARTS, E. E. et al. Performance of four current risk algorithms in predicting cardiovascular events in patients with early rheumatoid arthritis. **Ann Rheum Dis,** v. 74, n. 4, p. 668-74, Apr 2015.

ASSMANN, G. et al. High-density lipoprotein cholesterol as a predictor of coronary heart disease risk. The PROCAM experience and pathophysiological implications for reverse cholesterol transport. **Atherosclerosis,** v. 124 Suppl, p. S11-20, Jul 1996.

ASZTALOS, B. F. et al. Differential effects of HDL subpopulations on cellular ABCA1- and SR-BI-mediated cholesterol efflux. **J Lipid Res,** v. 46, n. 10, p. 2246-53, Oct 2005.

ASZTALOS, B. F. et al. High-density lipoprotein subpopulation profile and coronary heart disease prevalence in male participants of the Framingham Offspring Study. **Arterioscler Thromb Vasc Biol,** v. 24, n. 11, p. 2181-7, Nov 2004.

ASZTALOS, B. F. et al. Two-dimensional electrophoresis of plasma lipoproteins: recognition of new apo A-I-containing subpopulations. **Biochim Biophys Acta,** v. 1169, n. 3, p. 291-300, Sep 1993.

BARTER, P. CETP and atherosclerosis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol,** v. 20, n. 9, p. 2029-31, Sep 2000.

BARTER, P. et al. High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions. **Atherosclerosis,** v. 168, n. 2, p. 195-211, Jun 2003.

BARTER, P. J. et al. Antiinflammatory properties of HDL. **Circ Res,** v. 95, n. 8, p. 764-72, Oct 2004.

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. 2109-22, Nov 2007.

BARTER, P. J.; PURANIK, R.; RYE, K. A. New insights into the role of HDL as an anti-inflammatory agent in the prevention of cardiovascular disease. **Curr Cardiol Rep,** v. 9, n. 6, p. 493-8, Nov 2007.

BARTER, P. J.; RYE, K. A. Cholesteryl Ester Transfer Protein Inhibitors as Agents to Reduce Coronary Heart Disease Risk. **Cardiol Clin,** v. 36, n. 2, p. 299-310, May 2018.

BARTLETT, J. et al. Is Isolated Low High-Density Lipoprotein Cholesterol a Cardiovascular Disease Risk Factor? New Insights From the Framingham Offspring Study. **Circ Cardiovasc Qual Outcomes,** v. 9, n. 3, p. 206-212, 05 2016.

BASU, A. et al. Data on carotid intima-media thickness and lipoprotein subclasses in type 1 diabetes from the Diabetes Control and Complications Trial and the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC). **Data Brief,** v. 6, p. 33-8, Mar 2016.

BASU, A. et al. Nuclear magnetic resonance-determined lipoprotein subclasses and carotid intima-media thickness in type 1 diabetes. **Atherosclerosis,** v. 244, p. 93-100, Jan 2016.

BAZO-ALVAREZ, J. C. et al. Agreement Between Cardiovascular Disease Risk Scores in Resource-Limited Settings: Evidence from 5 Peruvian Sites. **Crit Pathw Cardiol,** v. 14, n. 2, p. 74-80, Jun 2015.

BENSENOR, I. M. et al. Association between a healthy cardiovascular risk factor profile and coronary artery calcium score: Results from the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). **Am Heart J,** v. 174, p. 51-9, Apr 2016.

BISGAIER, C. L. et al. Distribution of apolipoprotein A-IV in human plasma. **J Lipid Res,** v. 26, n. 1, p. 11-25, Jan 1985.

BJÖRNSON, E.; BORÉN, J.; MARDINOGLU, A. Personalized Cardiovascular Disease Prediction and Treatment-A Review of Existing Strategies and Novel Systems Medicine Tools. **Front Physiol,** v. 7, p. 2, 2016.

BLANCHE, P. J. et al. Characterization of human high-density lipoproteins by gradient gel electrophoresis. **Biochim Biophys Acta,** v. 665, n. 3, p. 408-19, Sep 1981.

BLANKENBERG, S.; BARBAUX, S.; TIRET, L. Adhesion molecules and atherosclerosis. **Atherosclerosis,** v. 170, n. 2, p. 191-203, Oct 2003.

BOEKHOLDT, S. M. et al. Levels and changes of HDL cholesterol and apolipoprotein A-I in relation to risk of cardiovascular events among statin-treated patients: a meta-analysis. **Circulation,** v. 128, n. 14, p. 1504-12, Oct 2013.

BOWMAN, L. et al. Effects of Anacetrapib in Patients with Atherosclerotic Vascular Disease. **N Engl J Med,** v. 377, n. 13, p. 1217-1227, 09 2017.

BRANDÃO, A. A. et al. [Conceptualization, epidemiology, and primary prevention]. **J Bras Nefrol,** v. 32 Suppl 1, p. 1-4, Sep 2010.

BRANDÃO, A. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia / Sociedade Brasileira de Hipertensão / Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arq Bras Cardiol,** v. 95, n.1 supl.1, p. 1-51, 2010.

BRUCE, C.; CHOUINARD, R. A.; TALL, A. R. Plasma lipid transfer proteins, high-density lipoproteins, and reverse cholesterol transport. **Annu Rev Nutr,** v. 18, p. 297-330, 1998.

BUDOFF, M. J. et al. Assessment of coronary artery disease by cardiac computed tomography: a scientific statement from the American Heart Association Committee on Cardiovascular Imaging and Intervention, Council on Cardiovascular Radiology and Intervention, and Committee on Cardiac Imaging, Council on Clinical Cardiology. **Circulation,** v. 114, n. 16, p. 1761-91, Oct 2006.

CAMONT, L.; CHAPMAN, M. J.; KONTUSH, A. Biological activities of HDL subpopulations and their relevance to cardiovascular disease. **Trends Mol Med,** v. 17, n. 10, p. 594-603, Oct 2011.

CHUNG, M. et al. Comparability of methods for LDL subfraction determination: A systematic review. **Atherosclerosis,** v. 205, n. 2, p. 342-8, Aug 2009.

CÍFKOVÁ, R.; KRAJČOVIECHOVÁ, A. Dyslipidemia and cardiovascular disease in women. **Curr Cardiol Rep,** v. 17, n. 7, p. 609, Jul 2015.

COHEN, E. et al. Human carotid atherosclerotic plaque protein(s) change HDL protein(s) composition and impair HDL anti-oxidant activity. **Biofactors,** v. 42, n. 1, p. 115-28, 2016 Jan-Feb 2016.

CUCHEL, M.; RADER, D. J. Macrophage reverse cholesterol transport: key to the regression of atherosclerosis? **Circulation,** v. 113, n. 21, p. 2548-55, May 2006.

CZIRAKY, M. J.; WATSON, K. E.; TALBERT, R. L. Targeting low HDL-cholesterol to decrease residual cardiovascular risk in the managed care setting. **J Manag Care Pharm,** v. 14, n. 8 Suppl, p. S3-28; quiz S30-1, Oct 2008.

D'AGOSTINO, R. B. et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. **Circulation,** v. 117, n. 6, p. 743-53, Feb 2008.

DARABI, M. et al. Therapeutic applications of reconstituted HDL: When structure meets function. **Pharmacol Ther,** v. 157, p. 28-42, Jan 2016.

DEGOMA, E. M.; DEGOMA, R. L.; RADER, D. J. Beyond high-density lipoprotein cholesterol levels evaluating high-density lipoprotein function as influenced by novel therapeutic approaches. **J Am Coll Cardiol,** v. 51, n. 23, p. 2199-211, Jun 2008.

DE LA LLERA-MOYA, M. et al. The ability to promote efflux via ABCA1 determines the capacity of serum specimens with similar high-density lipoprotein cholesterol to remove cholesterol from macrophages. **Arterioscler Thromb Vasc Biol,** v. 30, n. 4, p. 796-801, Apr 2010.

DEGRELL, P. et al. Screening for coronary artery disease in asymptomatic individuals: Why and how? **Arch Cardiovasc Dis,** v. 108, n. 12, p. 675-82, Dec 2015.

DISTELMAIER, K. et al. Impaired antioxidant HDL function is associated with premature myocardial infarction. **Eur J Clin Invest,** v. 45, n. 7, p. 731-8, Jul 2015.

EL HARCHAOUI, K. et al. High-density lipoprotein particle size and concentration and coronary risk. **Ann Intern Med,** v. 150, n. 2, p. 84-93, Jan 2009.

ESTERBAUER, H. et al. Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. **Free Radic Res Commun,** v. 6, n. 1, p. 67-75, 1989.

FALUDI, A. A. et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arq Bras Cardiol,** v. 109, n.4, p. 1-76, 2017.

FAVARI, E. et al. Small discoidal pre-beta1 HDL particles are efficient acceptors of cell cholesterol via ABCA1 and ABCG1. **Biochemistry,** v. 48, n. 46, p. 11067-74, Nov 2009.

FEDELI, L. G. et al. [Logistics of collection and transportation of biological samples and the organization of the central laboratory in the ELSA-Brasil]. **Rev Saude Publica,** v. 47 Suppl 2, p. 63-71, Jun 2013.

FERKET, B. S. et al. Systematic review of guidelines on imaging of asymptomatic coronary artery disease. **J Am Coll Cardiol,** v. 57, n. 15, p. 1591-600, Apr 2011.

FLEGEL, W. A. et al. Prevention of endotoxin-induced monokine release by human low- and high-density lipoproteins and by apolipoprotein A-I. **Infect Immun,** v. 61, n. 12, p. 5140-6, Dec 1993.

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. **Clin Chem,** v. 18, n. 6, p. 499-502, Jun 1972.

GAO, S. et al. Circulating Oxidized Low-Density Lipoprotein Levels Independently Predict 10-Year Progression of Subclinical Carotid Atherosclerosis: A Community-Based Cohort Study. **J Atheroscler Thromb**, Mar 2018.

GENEROSO, G. et al. Diabetes alters the association between high-density lipoprotein subfractions and carotid intima-media thickness: The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). **Diab Vasc Dis Res,** v. 15, n. 6, p. 541-547, 11 2018.

GIBSON, C. M. et al. Rationale and design of Apo-I Event Reduction in Ischemic Syndromes I (AEGIS-I): A phase 2b, randomized, placebo-controlled, dose-ranging trial to investigate the safety and tolerability of CSL112, a reconstituted, infusible, human apoA-I, after acute myocardial infarction. **Am Heart J,** v. 180, p. 22-8, Oct 2016.

GISTERÅ , A.; HANSSON, G. K. The immunology of atherosclerosis. **Nat Rev Nephrol,** v. 13, n. 6, p. 368-380, 06 2017.

GOFF, D. C. et al. 2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. **Circulation,** v. 129, n. 25 Suppl 2, p. S49-73, Jun 2014.

GORDON, D. J. et al. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. **Circulation,** v. 79, n. 1, p. 8-15, Jan 1989.

GORENOI, V.; HAGEN, A. Overview of Risk-Estimation Tools for Primary Prevention of Cardiovascular Diseases in European Populations. **Cent Eur J Public Health,** v. 23, n. 2, p. 91-9, 06 2015.

GREENLAND, P. et al. ACCF/AHA 2007 clinical expert consensus document on coronary artery calcium scoring by computed tomography in global cardiovascular risk assessment and in evaluation of patients with chest pain: a report of the American College of Cardiology Foundation Clinical Expert Consensus Task Force (ACCF/AHA Writing Committee to Update the 2000 Expert Consensus Document on Electron Beam Computed Tomography). **Circulation,** v. 115, n. 3, p. 402-26, Jan 2007.

GREENLAND, P. et al. 2010 ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. **Circulation,** v. 122, n. 25, p. 2748-64, Dec 2010.

GREENLAND, P.; SMITH, S. C.; GRUNDY, S. M. Improving coronary heart disease risk assessment in asymptomatic people: role of traditional risk factors and noninvasive cardiovascular tests. **Circulation,** v. 104, n. 15, p. 1863-7, Oct 2001.

GU, L. et al. Absence of monocyte chemoattractant protein-1 reduces atherosclerosis in low density lipoprotein receptor-deficient mice. **Mol Cell,** v. 2, n. 2, p. 275-81, Aug 1998.

HANLEY, J. A.; MCNEIL, B. J. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. **Radiology,** v. 143, n. 1, p. 29-36, Apr 1982.

HANSSON, G. K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. **N Engl J Med,** v. 352, n. 16, p. 1685-95, Apr 2005.

HELFAND, M. et al. Emerging risk factors for coronary heart disease: a summary of systematic reviews conducted for the U.S. Preventive Services Task Force. **Ann Intern Med,** v. 151, n. 7, p. 496-507, Oct 2009.

HIRAYAMA, S.; MIIDA, T. Small dense LDL: An emerging risk factor for cardiovascular disease. **Clin Chim Acta,** v. 414, p. 215-24, Dec 2012.

HISAMATSU, T.; FUJIYOSHI, A.; MIURA, K. [Coronary artery calcium:Its clinical utility in primary prevention.]. **Clin Calcium,** v. 29, n. 2, p. 215-223, 2019.

HU, J.; WALKER, S. Cholesterol Ester Transfer Protein Inhibitor Review. **Hosp Pharm,** v. 52, n. 9, p. 596-598, Oct 2017.

ITABE, H.; OBAMA, T.; KATO, R. The Dynamics of Oxidized LDL during Atherogenesis. **J Lipids,** v. 2011, p. 418313, 2011.

IVANOVA, E. A. et al. Small Dense Low-Density Lipoprotein as Biomarker for Atherosclerotic Diseases. **Oxid Med Cell Longev,** v. 2017, p. 1273042, 2017.

JEYARAJAH, E. J.; CROMWELL, W. C.; OTVOS, J. D. Lipoprotein particle analysis by nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Clin Lab Med,** v. 26, n. 4, p. 847-70, Dec 2006.

JI, A. et al. Impact of phospholipid transfer protein on nascent high-density lipoprotein formation and remodeling. **Arterioscler Thromb Vasc Biol,** v. 34, n. 9, p. 1910-6, Sep 2014.

JOHANNSEN, T. H. et al. Genetic inhibition of CETP, ischemic vascular disease and mortality, and possible adverse effects. **J Am Coll Cardiol,** v. 60, n. 20, p. 2041-8, Nov 2012.

JOSHI, P. H. et al. Association of high-density lipoprotein subclasses and incident coronary heart disease: The Jackson Heart and Framingham Offspring Cohort Studies. **Eur J Prev Cardiol,** v. 23, n. 1, p. 41-9, Jan 2016.

KAJANI, S.; CURLEY, S.; MCGILLICUDDY, F. C. Unravelling HDL-Looking beyond the Cholesterol Surface to the Quality Within. **Int J Mol Sci,** v. 19, n. 7, Jul 2018.

KANNEL, W. B. et al. RISK FACTORS IN CORONARY HEART DISEASE. AN EVALUATION OF SEVERAL SERUM LIPIDS AS PREDICTORS OF CORONARY HEART DISEASE; THE FRAMINGHAM STUDY. **Ann Intern Med,** v. 61, p. 888-99, Nov 1964.

KANNEL, W. B.; MCGEE, D.; GORDON, T. A general cardiovascular risk profile: the Framingham Study. **Am J Cardiol,** v. 38, n. 1, p. 46-51, Jul 1976.

KAPUSTIN, A. N. et al. Vascular smooth muscle cell calcification is mediated by regulated exosome secretion. **Circ Res,** v. 116, n. 8, p. 1312-23, Apr 2015.

KARABINA, S. A. et al. Oxidative inactivation of paraoxonase--implications in diabetes mellitus and atherosclerosis. **Biochim Biophys Acta,** v. 1725, n. 2, p. 213-21, Sep 2005.

KARMALI, K. N. et al. Risk scoring for the primary prevention of cardiovascular disease. **Cochrane Database Syst Rev,** v. 3, p. CD006887, 03 2017.

KEENE, D. et al. Effect on cardiovascular risk of high density lipoprotein targeted drug treatments niacin, fibrates, and CETP inhibitors: meta-analysis of randomised controlled trials including 117,411 patients. **BMJ,** v. 349, p. g4379, Jul 2014.

KHERA, A. V. et al. Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis. **N Engl J Med,** v. 364, n. 2, p. 127-35, Jan 2011.

KIDAWA, M. et al. Cholesterol subfraction analysis in patients with acute coronary syndrome. **Curr Vasc Pharmacol**, May 2018.

KIM, D. S. et al. Concentration of Smaller High-Density Lipoprotein Particle (HDL-P) Is Inversely Correlated With Carotid Intima Media Thickening After Confounder Adjustment: The Multi Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). **J Am Heart Assoc,** v. 5, n. 5, 05 2016.

KONTUSH, A. HDL particle number and size as predictors of cardiovascular disease. **Front Pharmacol,** v. 6, p. 218, 2015.

KONTUSH, A.; CHANTEPIE, S.; CHAPMAN, M. J. Small, dense HDL particles exert potent protection of atherogenic LDL against oxidative stress. **Arterioscler Thromb Vasc Biol,** v. 23, n. 10, p. 1881-8, Oct 2003.

KONTUSH, A.; CHAPMAN, M. J. Functionally defective high-density lipoprotein: a new therapeutic target at the crossroads of dyslipidemia, inflammation, and atherosclerosis. **Pharmacol Rev,** v. 58, n. 3, p. 342-74, Sep 2006.

KOSMAS, C. E. et al. High-density lipoprotein (HDL) functionality and its relevance to atherosclerotic cardiovascular disease. **Drugs Context,** v. 7, p. 212525, 2018.

KRAUSS, R. M. Lipoprotein subfractions and cardiovascular disease risk. **Curr Opin Lipidol,** v. 21, n. 4, p. 305-11, Aug 2010.

KULKARNI, K. R. Cholesterol profile measurement by vertical auto profile method. **Clin Lab Med,** v. 26, n. 4, p. 787-802, Dec 2006.

KUNUTSOR, S. K. et al. Serum paraoxonase-1 activity and risk of incident cardiovascular disease: The PREVEND study and meta-analysis of prospective population studies. **Atherosclerosis,** v. 245, p. 143-54, Feb 2016.

KUTNER, M. H. et al. Applied linear models. 5th ed. New York: McGraw-Hill Irwin, 2004

LAMON-FAVA, S. et al. Plasma levels of HDL subpopulations and remnant lipoproteins predict the extent of angiographically-defined coronary artery disease in postmenopausal women. **Arterioscler Thromb Vasc Biol,** v. 28, n. 3, p. 575-9, Mar 2008.

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. An application of hierarchical kappa-type statistics in the assessment of majority agreement among multiple observers. **Biometrics,** v. 33, n. 2, p. 363-74, Jun 1977.

LAURINAVICIUS, A. G. et al. Extremely elevated HDL-cholesterol levels are not associated with increased carotid intima-media thickness: data from ELSA Brasil. **J Clin Lipidol,** v. 10, n. 4, p. 898-904.e1, 2016 Jul-Aug 2016.

LI, J. J. et al. Large HDL Subfraction But Not HDL-C Is Closely Linked With Risk Factors, Coronary Severity and Outcomes in a Cohort of Nontreated Patients With Stable Coronary Artery Disease: A Prospective Observational Study. **Medicine (Baltimore),** v. 95, n. 4, p. e2600, Jan 2016.

LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature,** v. 420, n. 6917, p. 868-74, Dec 2002.

LINDGREN, F. T.; ELLIOTT, H. A.; GOFMAN, J. W. The ultracentrifugal characterization and isolation of human blood lipids and lipoproteins, with applications to the study of atherosclerosis. **J Phys Colloid Chem,** v. 55, n. 1, p. 80-93, Jan 1951.

LIU, D. et al. The apolipoprotein A-I mimetic peptide, D-4F, alleviates ox-LDL-induced oxidative stress and promotes endothelial repair through the eNOS/HO-1 pathway. **J Mol Cell Cardiol,** v. 105, p. 77-88, 04 2017.

LIU, M. et al. Hepatic ABCA1 deficiency is associated with delayed apolipoprotein B secretory trafficking and augmented VLDL triglyceride secretion. **Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids,** v. 1862, n. 10 Pt A, p. 1035-1043, Oct 2017.

LOHMAN, T.; GOINS, S. Assesment of body composition and energy balance. In: LAMB, D.; MURRAY, R. Perspective in exercise science and sports medicine. Cooper Publishing Group: Carmel, p. 61-105, Fev 1998.

LOTUFO, P. A. O escore de risco de Framingham para doenças cardiovasculares. **Rev Med: São Paulo,** v. 87, n. 4, p. 232-7, Out-Dez 2008.

MACKNESS, M. I.; ARROL, S.; DURRINGTON, P. N. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. **FEBS Lett,** v. 286, n. 1-2, p. 152-4, Jul 1991.

MADSEN, C. M.; VARBO, A.; NORDESTGAARD, B. G. Extreme high high-density lipoprotein cholesterol is paradoxically associated with high mortality in men and women: two prospective cohort studies. **Eur Heart J,** v. 38, n. 32, p. 2478-2486, Aug 2017.

MARK, D. B. et al. ACCF/ACR/AHA/NASCI/SAIP/SCAI/SCCT 2010 expert consensus document on coronary computed tomographic angiography: a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Expert Consensus Documents. **Circulation,** v. 121, n. 22, p. 2509-43, Jun 2010.

MARTIN, S. S. et al. HDL cholesterol subclasses, myocardial infarction, and mortality in secondary prevention: the Lipoprotein Investigators Collaborative. **Eur Heart J,** v. 36, n. 1, p. 22-30, Jan 2015.

MASSON, W. et al. Estimation of cardiovascular risk and detection of subclínical carotid atheromatosis in patients with diabetes without a history of cardiovascular disease. **Arch Endocrinol Metab,** v. 61, n. 2, p. 122-129, 2017 Mar-Apr 2017.

MATERA, R. et al. HDL Particle Measurement: Comparison of 5 Methods. **Clin Chem,** v. 64, n. 3, p. 492-500, Mar 2018.

MATHENY, M. et al. Systematic Review of Cardiovascular Disease Risk Assessment Tools. Rockville (MD): **Agency for Healthcare Research and Q**uality (US), Report No.: 11-05155-EF-1, May 2011.

MCGARRAH, R. W. et al. A Novel Protein Glycan-Derived Inflammation Biomarker Independently Predicts Cardiovascular Disease and Modifies the Association of HDL Subclasses with Mortality. **Clin Chem,** v. 63, n. 1, p. 288-296, Jan 2017.

MINEO, C.; SHAUL, P. W. Novel biological functions of high-density lipoprotein cholesterol. **Circ Res,** v. 111, n. 8, p. 1079-90, Sep 2012.

MOSCA, L. et al. Effectiveness-based guidelines for the prevention of cardiovascular disease in women--2011 update: a guideline from the american heart association. **Circulation,** v. 123, n. 11, p. 1243-62, Mar 2011.

MOSCA, L. Guidelines for prevention of cardiovascular disease in women: a summary of recommendations. **Prev Cardiol,** v. 10 Suppl 4, p. 19-25, 2007.

MOVVA, R.; RADER, D. J. Laboratory assessment of HDL heterogeneity and function. **Clin Chem,** v. 54, n. 5, p. 788-800, May 2008.

MUTHARASAN, R. K. et al. HDL efflux capacity, HDL particle size, and high-risk carotid atherosclerosis in a cohort of asymptomatic older adults: the Chicago Healthy Aging Study. **J Lipid Res,** v. 58, n. 3, p. 600-606, 03 2017.

NAKAHARA, T. et al. Coronary Artery Calcification: From Mechanism to Molecular Imaging. **JACC Cardiovasc Imaging,** v. 10, n. 5, p. 582-593, 05 2017.

NAVAB, M. et al. Monocyte transmigration induced by modification of low density lipoprotein in cocultures of human aortic wall cells is due to induction of monocyte chemotactic protein 1 synthesis and is abolished by high density lipoprotein. **J Clin Invest,** v. 88, n. 6, p. 2039-46, Dec 1991.

NEVES, P. O.; ANDRADE, J.; MONÇÃO, H. Escore de cálcio coronariano: estado atual. **Radiol Bras**, v. 50, n. 3, p. 182–189, Mai/Jun 2017.

NEW, S. E. et al. Macrophage-derived matrix vesicles: an alternative novel mechanism for microcalcification in atherosclerotic plaques. **Circ Res,** v. 113, n. 1, p. 72-7, Jun 2013.

NIKOLIC, D. et al. Lipoprotein subfractions in metabolic syndrome and obesity: clinical significance and therapeutic approaches. **Nutrients,** v. 5, n. 3, p. 928-48, Mar 2013.

NOFER, J. R. et al. HDL induces NO-dependent vasorelaxation via the lysophospholipid receptor S1P3. **J Clin Invest,** v. 113, n. 4, p. 569-81, Feb 2004.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Doenças Cardiovasculares. Disponível em: http://www. who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds) Acesso em Fevereiro, 2019.

OSLAKOVIC, C. et al. Anionic phospholipids lose their procoagulant properties when incorporated into high density lipoproteins. **J Biol Chem,** v. 284, n. 9, p. 5896-904, Feb 2009.

OTVOS, J. D. Measurement of lipoprotein subclass profiles by nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Clin Lab,** v. 48, n. 3-4, p. 171-80, 2002.

OTVOS, J. D.; JEYARAJAH, E. J.; CROMWELL, W. C. Measurement issues related to lipoprotein heterogeneity. **Am J Cardiol,** v. 90, n. 8A, p. 22i-29i, Oct 2002.

PENCINA, M. J. et al. Application of new cholesterol guidelines to a population-based sample. **N Engl J Med,** v. 370, n. 15, p. 1422-31, Apr 2014.

PENCINA, M. J.; D'AGOSTINO, R. B.; STEYERBERG, E. W. Extensions of net reclassification improvement calculations to measure usefulness of new biomarkers. **Stat Med,** v. 30, n. 1, p. 11-21, Jan 2011.

PERK, J. [New European guidelines on cardiovascular disease prevention]. **Lakartidningen,** v. 109, n. 34-35, p. 1463, 2012 Aug 22-Sep 4 2012.

PIRILLO, A. et al. Treating high density lipoprotein cholesterol (HDL-C): quantity versus quality. **Curr Pharm Des,** v. 19, n. 21, p. 3841-57, 2013.

PIRILLO, A.; NORATA, G. D.; CATAPANO, A. L. High-density lipoprotein subfractions--what the clinicians need to know. **Cardiology,** v. 124, n. 2, p. 116-25, 2013.

REN, K. et al. MicroRNA-24 aggravates atherosclerosis by inhibiting selective lipid uptake from HDL cholesterol via the post-transcriptional repression of scavenger receptor class B type I. **Atherosclerosis,** v. 270, p. 57-67, 03 2018.

RIBAS, V. et al. Human apolipoprotein A-II enrichment displaces paraoxonase from HDL and impairs its antioxidant properties: a new mechanism linking HDL protein composition and antiatherogenic potential. **Circ Res,** v. 95, n. 8, p. 789-97, Oct 2004.

RIDKER, P. et al. C-reactive protein and parental history improve global cardiovascular risk prediction: the Reynolds Risk Score for men. **Circulation,** v. 118, n. 22, p. 2243-51, 4p following 2251, Nov 2008.

RIDKER, P. et al. Polymorphism in the CETP gene region, HDL cholesterol, and risk of future myocardial infarction: Genomewide analysis among 18 245 initially healthy women from the Women's Genome Health Study. **Circ Cardiovasc Genet,** v. 2, n. 1, p. 26-33, Feb 2009.

RIDKER, P. M. et al. Development and validation of improved algorithms for the assessment of global cardiovascular risk in women: the Reynolds Risk Score. **JAMA,** v. 297, n. 6, p. 611-9, Feb 2007.

ROSENSON, R. S. et al. HDL measures, particle heterogeneity, proposed nomenclature, and relation to atherosclerotic cardiovascular events. **Clin Chem,** v. 57, n. 3, p. 392-410, Mar 2011.

ROSS, R.; GLOMSET, J. A. The pathogenesis of atherosclerosis (first of two parts). **N Engl J Med,** v. 295, n. 7, p. 369-77, Aug 1976.

ROSS, R.; GLOMSET, J. A. The pathogenesis of atherosclerosis (second of two parts). **N Engl J Med,** v. 295, n. 8, p. 420-5, Aug 1976.

RYE, K. A.; BARTER, P. J. Formation and metabolism of prebeta-migrating, lipid-poor apolipoprotein A-I. **Arterioscler Thromb Vasc Biol,** v. 24, n. 3, p. 421-8, Mar 2004.

SCHMIDT, M. I. et al. Cohort Profile: Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). **Int J Epidemiol,** v. 44, n. 1, p. 68-75, Feb 2015.

SCHMIDT, M. I. et al. [Strategies and development of quality assurance and control in the ELSA-Brasil]. **Rev Saude Publica,** v. 47 Suppl 2, p. 105-12, Jun 2013.

SEVANIAN, A.; ASATRYAN, L.; ZIOUZENKOVA, O. Low density lipoprotein (LDL) modification: basic concepts and relationship to atherosclerosis. **Blood Purif,** v. 17, n. 2-3, p. 66-78, 1999.

SHAUL, P. W.; MINEO, C. HDL action on the vascular wall: is the answer NO? **J Clin Invest,** v. 113, n. 4, p. 509-13, Feb 2004.

SHROUT, P. E.; FLEISS, J. L. Intraclass correlations: uses in assessing rater reliability. **Psychol Bull,** v. 86, n. 2, p. 420-8, Mar 1979.

SILBERNAGEL, G. et al. High-density lipoprotein cholesterol, coronary artery disease, and cardiovascular mortality. **Eur Heart J,** v. 34, n. 46, p. 3563-71, Dec 2013.

SILBERNAGEL, G. et al. High-Density Lipoprotein Subclasses, Coronary Artery Disease, and Cardiovascular Mortality. **Clin Chem,** v. 63, n. 12, p. 1886-1896, Dec 2017.

STEINBERG, D. et al. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. **N Engl J Med,** v. 320, n. 14, p. 915-24, Apr 1989.

STONE, N. J. et al. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. **Circulation,** v. 129, n. 25 Suppl 2, p. S1-45, Jun 2014.

SUC, I. et al. HDL and ApoA prevent cell death of endothelial cells induced by oxidized LDL. **Arterioscler Thromb Vasc Biol,** v. 17, n. 10, p. 2158-66, Oct 1997.

SUPERKO, H. R. et al. High-density lipoprotein subclasses and their relationship to cardiovascular disease. **J Clin Lipidol,** v. 6, n. 6, p. 496-523, 2012 Nov-Dec 2012.

TALL, A. R. Cholesterol efflux pathways and other potential mechanisms involved in the athero-protective effect of high density lipoproteins. **J Intern Med,** v. 263, n. 3, p. 256-73, Mar 2008.

TALL, A. R. et al. HDL, ABC transporters, and cholesterol efflux: implications for the treatment of atherosclerosis. **Cell Metab,** v. 7, n. 5, p. 365-75, May 2008.

TALL, A. R. Plasma cholesteryl ester transfer protein. **J Lipid Res,** v. 34, n. 8, p. 1255-74, Aug 1993.

TANGIRALA, R. K. et al. Regression of atherosclerosis induced by liver-directed gene transfer of apolipoprotein A-I in mice. **Circulation,** v. 100, n. 17, p. 1816-22, Oct 1999.

TERASAKA, N. et al. ABCG1 and HDL protect against endothelial dysfunction in mice fed a high-cholesterol diet. **J Clin Invest,** v. 118, n. 11, p. 3701-13, Nov 2008.

The Third Report of the National Cholesterol Education Program (NECP). Expert Panel on Detection. Evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). **JAMA**, v. 16, n. 285, p. 2486-2497, Apr 2001.

TIAN, L. et al. The impact of plasma triglyceride and apolipoproteins concentrations on high-density lipoprotein subclasses distribution. **Lipids Health Dis,** v. 10, p. 17, Jan 2011.

TOTH, P. P. et al. Relationship between lipoprotein subfraction cholesterol and residual risk for cardiovascular outcomes: A post hoc analysis of the AIM-HIGH trial. **J Clin Lipidol,** v. 12, n. 3, p. 741-747.e11, 2018 May - Jun 2018.

VAN CAPELLEVEEN, J. C. et al. Association of High-Density Lipoprotein-Cholesterol Versus Apolipoprotein A-I With Risk of Coronary Heart Disease: The European Prospective Investigation Into Cancer-Norfolk Prospective Population Study, the Atherosclerosis Risk in Communities Study, and the Women's Health Study. **J Am Heart Assoc,** v. 6, n. 8, Aug 2017.

VAN DER STOEP, M.; KORPORAAL, S. J.; VAN ECK, M. High-density lipoprotein as a modulator of platelet and coagulation responses. **Cardiovasc Res,** v. 103, n. 3, p. 362-71, Aug 2014.

VICKERS, K. C. et al. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. **Nat Cell Biol,** v. 13, n. 4, p. 423-33, Apr 2011.

VOIGHT, B. F. et al. Plasma HDL cholesterol and risk of myocardial infarction: a mendelian randomisation study. **Lancet,** v. 380, n. 9841, p. 572-80, Aug 2012.

WANG, Y. et al. Will all Americans become overweight or obese? estimating the progression and cost of the US obesity epidemic. **Obesity (Silver Spring),** v. 16, n. 10, p. 2323-30, Oct 2008.

WILHELM, A. J. et al. Apolipoprotein A-I modulates regulatory T cells in autoimmune LDLr-/-, ApoA-I-/- mice. **J Biol Chem,** v. 285, n. 46, p. 36158-69, Nov 2010.

WILSON, P. W. et al. C-reactive protein and risk of cardiovascular disease in men and women from the Framingham Heart Study. **Arch Intern Med,** v. 165, n. 21, p. 2473-8, Nov 2005.

WILSON, P. W. et al. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. **Circulation,** v. 97, n. 18, p. 1837-47, May 1998.

WILSON, P. W.; ABBOTT, R. D.; CASTELLI, W. P. High density lipoprotein cholesterol and mortality. The Framingham Heart Study. **Arteriosclerosis,** v. 8, n. 6, p. 737-41, Nov-Dec 1988.

XAVIER, H. T. et al. [V Brazilian Guidelines on Dyslipidemias and Prevention of Atherosclerosis]. **Arq Bras Cardiol,** v. 101, n. 4 Suppl 1, p. 1-20, 10 2013.

XU, R. X. et al. High-density lipoprotein subfractions in relation with the severity of coronary artery disease: A Gensini score assessment. **J Clin Lipidol,** v. 9, n. 1, p. 26-34, 2015 Jan-Feb 2015.

XU, R. X. et al. Impact of short-term low-dose atorvastatin on low-density lipoprotein and high-density lipoprotein subfraction phenotype. **Clin Exp Pharmacol Physiol,** v. 41, n. 7, p. 475-81, Jul 2014.

XU, Y.; FU, M. Alterations of HDL subclasses in hyperlipidemia. **Clin Chim Acta,** v. 332, n. 1-2, p. 95-102, Jun 2003.

7. ANEXOS

Anexo 1.

Fls.nº 109
CEP/HU-USP

30 anos hospital universitário universidade de são paulo

São Paulo, 6 de agosto de 2011.

Ilmo(a). Sr(a).
Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno
Serviço de Nutrição e Dietética do Hospital Universitário
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

REFERENTE: **Projeto de Pesquisa** "Propriedade físico-químicas da LDL e da HDL, marcadores cardiometabólicos e oxidativos podem ser modulados pelo consumo de ômega-3, ômega-6 e ômega-9 em indivíduos com risco cardiovascular intermediário?" - **Pesquisador(a) responsável:** Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno – **Co-Autor(es):** Dr. Antonio Figueiredo, Dr. Magnus Ake Gidlund, Dra. Sayuri Miyamoto, Dr. Raul Cavalcante Maranhão, Dra. Dulcineia S. P. Abdalla, Dr. Rodrigo Diaz Olmos, Marlene Nuñez Aldin, Adriane Bueno Marangoni, Caroline Pappiane, Claudia Assef Sanibal - **Registro CEP-HU/USP**: 1126/11 – **SISNEP CAAE:** 0063.0.207.198-11.

Prezado(a) Senhor(a)

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, em reunião ordinária realizada no dia 5 de agosto de 2011, analisou o Projeto de Pesquisa acima citado, considerando-o como **APROVADO,** bem como o seu **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.**

Lembramos que cabe ao pesquisador elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios anuais (parciais ou final, em função da duração da pesquisa), de acordo com a Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, inciso IX.2, letra "c".

O primeiro relatório está previsto para 5 de agosto de 2012.

Atenciosamente,

Dr. Maurício Seckler
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital Universitário da USP

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA USP
Avenida Professor Lineu Prestes, 2565 – Cidade Universitária – 05508-000 São Paulo – SP
Tels.: (11) 3091-9457 – Fax: (11) 3091-9479 - E-mail: cep@hu.usp.br

Anexo 2.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP
Faculdade de Saúde Pública
Universidade de São Paulo

OF.COEP/208/12

27 de novembro de 2012.

Prezada pesquisadora,

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, em sua **10.ª/12 Sessão Extraordinária**, realizada em **23/11/2012**, analisou de acordo com a Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares, o protocolo de pesquisa n.º **2264**, intitulado "**PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DA LDL E DA HDL, MARCADORES CARDIOMETABÓLICOS E OXIDATIVOS PODEM SER MODULADOS PELO CONSUMO DE ÔMEGA-3, ÔMEGA-6 E ÔMEGA-9 EM INDIVÍDUOS COM RISCO CARDIOVASCULAR INTERMEDIÁRIO?**", do **grupo III**, sob responsabilidade da pesquisadora **Nágila Raquel Teixeira Damasceno**, considerando **APROVADO** a inclusão de novas análises no projeto.

Cabe lembrar que, de acordo com a Res. CNS 196/96, são deveres do(a) pesquisador(a): **1)** Comunicar de imediato qualquer alteração no projeto e aguardar manifestação deste Comitê de Ética em Pesquisa para dar continuidade à pesquisa; **2)** Manter sob sua guarda e em local seguro, pelo prazo de 5 (cinco) anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo COEP, no caso eventual auditoria; **3)** Comunicar formalmente a este Comitê por ocasião do encerramento da pesquisa; **4)** Elaborar e apresentar relatórios parciais e final; **5)** Justificar perante o COEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Atenciosamente,

Prof. Tit. Claudio Leone
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa – FSP/USP

Ilm.ª Sr.ª
Prof.ª Dr.ª **Nágila Raquel Teixeira Damasceno**
Departamento de Nutrição
Faculdade de Saúde Pública/USP

Anexo 3.

Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública
Av. Dr. Arnaldo, 715 – CEP 01246-904 – São Paulo- Brasil
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa: **Propriedades físico-químicas da LDL e da HDL, marcadores cardiometabólicos e oxidativos podem ser modulados pelo consumo de ômega-3, ômega-6 e ômega-9 em indivíduos com risco cardiovascular intermediário?**

O motivo que nos leva a estudar esses pacientes é o fato de que as doenças do coração e das veias são um dos principais problemas de Saúde Pública no mundo, sendo provável que os hábitos alimentares mudem a ocorrência dessas doenças. A pesquisa se justifica pela necessidade de avaliar o efeito do consumo de diferentes tipos de gordura sobre os fatores de risco (colesterol alto, pressão e outros parâmetros clínicos e laboratoriais). Portanto, o objetivo desse projeto é avaliar o efeito do consumo de cápsulas de ômega-3, ômega-6 ou ômega-9 sobre fatores de risco cardíacos de indivíduos sob atendimento ambulatorial. O procedimento de coleta de material será da seguinte forma: será coletada uma amostra de sangue e também serão aplicados questionários para avaliar seu nível socioeconômico, clinico, nível de atividade física habitual e sua dieta. Esses questionários serão aplicados em três momentos (Basal, 4 semanas e 8 semanas). Após a coleta dos dados basais, cada indivíduo será incluído aleatoriamente num dos quatro grupos de intervenção (Ômega-3, Ômega-6, Ômega-9, Placebo).

DESCONFORTOS, RISCOS E BENEFÍCIOS: Existem desconfortos e riscos mínimos que envolvem mudanças no hálito, coceira e eventualmente pequeno aumento no tempo necessário para parar um sangramento. Além disso, pequenas manchas no local de punção, relacionada a coleta de sangue. Entretanto, esses desconfortos se justificam pelo beneficio que essa pesquisa trará se identificarmos o papel desses ácidos graxos nos fatores de risco para doença do coração. O risco com a intervenção é considerado mínimo, pois as gorduras a serem fornecidas já fazem parte do hábito alimentar da população brasileira. Além da disponibilização de meios de contato 24h com a equipe de pesquisadores, ao término do estudo, você receberá os resultados de todos os exames, assim como será oferecida orientação nutricional verbal e documentada de modo a permitir que você incorpore a melhor intervenção ao seu hábito alimentar.

FORMA DE ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA: Em caso de algum efeito adverso a sua saúde, os pesquisadores devem ser avisados imediatamente e esses darão orientação e assistência clínica e nutricional a você.

GARANTIA DE ESCLARECIMENTO, LIBERDADE DE RECUSA E GARANTIA DE SIGILO: Você será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios.

O(s) pesquisador(es) irá(ão) tratar a sua identidade com padrões éticos de sigilo. Os resultados dos exames clinicos e laboratoriais não serão revelados. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma cópia deste consentimento informado será arquivada no Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo e outra será fornecida a você.

RESSARCIMENTO: A participação no estudo não acarretará custos para você e não será oferecida nenhuma compensação financeira adicional. Os eventuais gastos com transporte serão ressarcidos a você e ao término de cada etapa será oferecido gratuitamente um lanche, pois em todos os dias de coleta você precisará vir ao hospital em jejum.

DECLARAÇÃO DA(O) PARTICIPANTE:

Eu, _____, CPF n° _____, fui informada(o) dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações ou desistir de participar desta pesquisa se assim o desejar. A professora coordenadora do estudo Profa. Dra. Nagila Raquel Teixeira Damasceno ou um dos membros da equipe certificou-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais.

Em caso de dúvidas poderei chamar qualquer membro da equipe ou a coordenadora do estudo Profa. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno nos telefones (11) 3061-7865, 3091 9538, ou entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública (telefones 3061 7779 ou 3061 7742) ou o Comitê de Ética do Hospital Universitário (telefones 3091 9457 3091 9479) da Universidade de São Paulo.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Nome	Assinatura do Participante	Data
Nome	Assinatura do Pesquisador	Data
Nome	Assinatura da Testemunha	Data

Anexo 4.

QUESTIONÁRIO SÓCIO-ECONÔMICO E CLÍNICO

A00 ( ) Nº Cardionutri:

A0 Data: / /

A1 Nome:	A2Data de nascimento: / /
Endereço:	
Bairro:	CEP:
Cidade:	Telefone Res:
Telefone Recado:	Telefone Celular:
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
2( ) Ensino Fundamental Incompleto
3( ) Ensino Fundamental Completo
4( ) Ensino Médio Incompleto
5( ) Ensino Médio Completo
6( ) Ensino Superior Incompleto
7( ) Ensino Superior Completo
9( ) Outros:_____

A10 Quantas pessoas moram na sua casa?_____ A11 Quantas crianças?_____

A12 Renda familiar mensal: 1( ) Menos que 1 SM 3( ) Entre 6 e 10 SM
2( ) Entre 1 e 5 SM 4( ) Mais que 10 SM

A13 Fumante: 1( ) SIM 2( ) NÃO 3( ) EX-FUMANTE

A14Consome bebida alcoólica: 1( ) SIM 2( ) NÃO

A15Tipos de bebidas alcoólicas mais consumidas: 1( ) Cerveja 2( ) Vinho 3( ) Vodka
4( ) Cachaça 5( ) Outras:_____

A16Freqüência de Consumo: 1( ) Diário 2( ) Semanal:_____ 3( ) Mensal:_____
A17Quantidade de bebida alcoólica ingerida no intervalo acima?_____

A18Consumo de outros tipos de drogas: 1( ) SIM 2( ) NÃO

A19Qual (s):_____

A20Possui alguma doença? 1( ) SIM 2( ) NÃO

A21Qual doença:
1( ) Diabetes Mellitus
2( ) Hipertensão Arterial
3( ) Hipotiroidismo
4( ) Doença Hepática
6( ) Insuficiência Renal Crônica
7( ) Dislipidemia
8( ) Doença Auto-Imune
9( ) Doença Coronariana
5( ) Outras Qual (is)?_____

A22Diagnóstico Clínico de DAC ou equivalente: 1( ) SIM 2( ) NÃO

A23Qual diagnóstico:
1( ) História de Infarto do Miocárdio
2( ) Angina
3( ) Alterações eletrocardiográficas isquêmicas
4( ) Doença Arterial Periférica
5( ) Doença Arterial Carotídea (ataque isquêmico transitório ou Acidente Vascular Cerebral de origem carotídea ou obstrução da carótida >50%)
6( ) Diabetes Mellitus
7( ) Revascularização do Miocárdio
8( ) Angioplastia
9( ) Aterosclerose
10( ) Aneurisma de Aorta Abdominal
11( ) Outros:_____

A24 Fez algum tipo de cirurgia? 1( ) SIM 2( ) NÃO

A25 Qual (is)?_____

A26 Quando?_____

A27 Está usando algum Medicamento e/ou Suplemento? 1( ) SIM 2( ) NÃO

A28 Qual:
1( ) Estatinas
2( ) Anti-hipertensivo
3( ) Hipoglicemiante
4( ) Ferro/Zinco
5( ) Vitamina
6( ) Fibrato
7( ) Outro:_____

A29 Qual(is)?_____

A30 Posologia:_____

A31 Indicação:_____

A32 Você tem alguma alergia ou intolerância alimentar? 1( ) SIM 2( ) NÃO

A33 Qual (is):_____

A34 Antecedentes familiares de doenças crônicas? ( ) SIM ( ) NÃO

1 ( )Pai
1( ) Obesidade
2( ) Hipertensão
3( ) Infarto
4( ) AVC
5( ) Diabetes
6( ) Doença vascular periférica
7( ) Outro:_____

2 ( ) Mãe
1( ) Obesidade
2( ) Hipertensão
3( ) Infarto
4( ) AVC
5( ) Diabetes
6( ) Doença vascular periférica
7( ) Outro:_____

A35 Gestante ou Lactante? 1( ) SIM 2( ) NÃO

A36 Está recendo algum tipo de orientação Nutricional? 1( ) SIM 2( ) NÃO

A37 Qual freqüência? 1( ) Esporádica 2( ) Mensal 3( ) Trimestral 4( ) Semestral 5( ) Outras

8. CURRICULO LATTES

Maria Camila Pruper de Freitas

Endereço para acessar este CV: http://lattes.cnpq.br/6846197955440121

Última atualização do currículo em 07/02/2019

Doutoranda e Mestre em Ciências (2015) pelo Programa de Nutrição em Saúde Pública, Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP-USP). Graduada em Nutrição (2012) pela Universidade Nove de Julho. Experiência na área de pesquisa científica com ênfase em metabolismo de lipídeos, bioquímica da nutrição e análise de dados. Os projetos dos quais participo avaliam os efeitos de componentes nutricionais em parâmetros lipídicos, oxidativos, inflamatórios e imunológicos relacionados a aterosclerose, obesidade e doenças crônicas não transmissíveis. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome Maria Camila Pruper de Freitas

Nome em citações bibliográficas FREITAS, M. C. P.;FREITAS, MARIA CAMILA PRUPER DE;Freitas, M. C. P. DE

Endereço

Formação acadêmica/titulação

2015 Doutorado em andamento em Nutrição em Saúde Pública.
Faculdade de Saúde Pública de São Paulo, FSP - USP, Brasil.
Título: Desenvolvimento de um Escore de Funcionalidade da Lipoproteína de Alta Densidade (HDL) e sua Associação com Algoritmos de Predição de Risco Cardiovascular e Desfechos Clínicos em Indivíduos Brasileiros,
Orientador: Nágila Raquel Teixeira Damasceno.
Palavras-chave: lipídios; lipoproteínas; HDL; risco cardiovascular; doença cardiovascular; algoritmos de risco cardiovascular.
Grande área: Ciências da Saúde
Setores de atividade: Pesquisa e desenvolvimento científico.

2013 - 2015 Mestrado em Nutrição em Saúde Pública.
Faculdade de Saúde Pública de São Paulo, FSP - USP, Brasil.
Título: Papel do ômega-3 nas propriedades físico-químicas da HDL e LDL e possível associação com medidas Z-scan em indivíduos adultos,Ano de Obtenção: 2015.
Orientador: Nagila Raquel Teixeira Damasceno.
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.
Palavras-chave: ômega 3; lipoproteínas; doença cardiovascular.
Grande área: Ciências da Saúde
Setores de atividade: Outras atividades profissionais, científicas e técnicas.

2009 - 2012 Graduação em Nutrição.
Universidade Nove de Julho, UNINOVE, Brasil.
Título: Tamanho das lipoproteínas e mobilidade Z-scan da LDL em adolescentes obesos.
Orientador: Fernanda Machado de Carvalho.

Formação Complementar

2015 - 2015 Análise de Regressão Múltipla. (Carga horária: 40h).
Faculdade de Saúde Pública de São Paulo, FSP - USP, Brasil.

2014 - 2014 Introdução ao Uso do Software Stata. (Carga horária: 20h).
Faculdade de Saúde Pública de São Paulo, FSP - USP, Brasil.

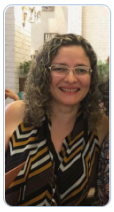
2011 - 2013 Immediate Conversation Series. (Carga horária: 200h).
Wizard Brasil, WIZARD, Brasil.

2011 - 2013 Espanhol. (Carga horária: 200h).
People, PEOPLE, Brasil.

2012 - 2012 Como evitar as complicações da cirurgia bariátrica. (Carga horária: 4h).
Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, HCFMUSP, Brasil.

2012 - 2012 Atualização de Nutrição em Cardiologia. (Carga horária: 12h).
Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, SOCESP, Brasil.

2011 - 2011 Curso para uso do Banco de Dados Bibiliográficos. (Carga horária: 2h).
Faculdade de Saúde Pública de São Paulo, FSP - USP, Brasil.



Nágila Raquel Teixeira Damasceno

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 2

Endereço para acessar este CV: http://lattes.cnpq.br/8729581028091781

Última atualização do currículo em 04/03/2019

Professora Associada do Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública (USP) e responsável pelo grupo de pesquisa em Oxidações Biológicas e Metabolismo Lipídico. Nos últimos anos tem coordenado pesquisas na área de Nutrição e Doenças Crônicas (DCV, Obesidade, Câncer, Epilepsia e Doenças Neurodegenerativas), com ênfase em aspectos lipídicos, oxidativos e inflamatórios modulados pelos ácidos graxos ômega-3. É diretora da Divisão de Nutrição e Dietética do Hospital Universitário (HU-USP), membro da diretoria do Departamento de Nutrição da SOCESP, conselheira científica do Conselho Regional de Nutrição (CRN3), membro do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fluidos Complexos (INCT-FCx) e membro do conselho deliberativo do Núcleo de Apoio à Pesquisa de Fluidos Complexos (NAP-FCx), além de fazer parte de comissões da Universidade de São Paulo (Biossegurança, Graduação en Nutrição, Cultura e Extensão e Residência Multiprofissional da FSP). Desde 2014 coordena o Programa de Cooperação Internacional Brasil - Suecia (CAPES-STINT), além de possuir parceria com grupos de pesquisa nacionais (UFPI, UECE, UNIFOR, UFC, UFF) e estrangeiros (Harvard University e Universidade de Barcelona). Possui Graduação em Nutrição pela Universidade Estadual do Ceará (1995), Mestrado (1997) e Doutorado (2001) em Ciências dos Alimentos pela Universidade de São Paulo. Realizou estágios de Pós-doutoramento em Imunologia (USP, 2004) e Nutrição e Endocrinologia (Universidade de Barcelona, Espanha, 2010). **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome Nágila Raquel Teixeira Damasceno

Nome em citações bibliográficas DAMASCENO, N. R. T.;DAMASCENO, NAGILA RAQUEL TEIXEIRA;DAMASCENO, N.R.T.;DAMASCENO, NÁGILA RAQUEL TEIXEIRA;DAMASCENO, NÁGILA R;DAMASCENO, NÁGILA R.;Damasceno NR;DAMASCENO, NR;Damasceno NRT

Endereço

Endereço Profissional Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública.
Av. Dr. Arnaldo, 715
Pacaembu
01246-904 - Sao Paulo, SP - Brasil
Telefone: (011) 30617865
Fax: (011) 30617701
URL da Homepage: http://www.usp.br

Formação acadêmica/titulação

1997 - 2001 Doutorado em Ciências dos Alimentos (Conceito CAPES 7).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: Influência das Isoflavonas Extraídas da Soja na Hipercolesterolemia e na Aterosclerose Experimental Induzida pela Caseína, Ano de obtenção: 2001.

Orientador: Dulcineia Saes Parra Abdalla.
Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.
Palavras-chave: Isoflavonas; Caseína; Oxidação; Lipoproteínas; Anticorpos; Aterosclerose.
Grande área: Ciências da Saúde
Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Medicina / Subárea: Clínica Médica / Especialidade: Alergologia e Imunologia Clínica.
Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Medicina / Subárea: Clínica Médica / Especialidade: Endocrinologia.
Setores de atividade: Fabricação de Produtos Químicos; Fabricação de Produtos Farmacêuticos; Desenvolvimento de Produtos Tecnológicos Voltados Para A Saúde Humana.

1995 - 1997 Mestrado em Ciências dos Alimentos (Conceito CAPES 7).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: Influência da Proteína Isolada da Soja e da Caseína no Desenvolvimento da Aterosclerose Experimental em Coelhos, Induzida pela Dieta Rica em Colesterol,Ano de Obtenção: 1997.
Orientador: Dulcineia Saes Parra Abdalla.
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.
Palavras-chave: Soja; Caseína; Aterosclerose; Colesterol; Anticorpos; hipercolesterolemia.
Grande área: Ciências da Saúde
Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Medicina / Subárea: Clínica Médica / Especialidade: Alergologia e Imunologia Clínica.
Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Medicina / Subárea: Clínica Médica / Especialidade: Endocrinologia.
Setores de atividade: Nutrição e Alimentação; Desenvolvimento de Produtos Tecnológicos Voltados Para A Saúde Humana; Fabricação de Produtos Farmacêuticos.