

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Programa de Pós-Graduação em Farmácia  
(Fisiopatologia e Toxicologia)  
Área: Análises Clínicas

Wilson Pascoalino Camargo de Oliveira

**Perfil lipídico plasmático e transferência de lípidos para lipoproteínas de  
alta densidade (HDL) em pacientes restritos ao leito em cuidados  
prolongados**

São Paulo  
2016

Wilson Pascoalino Camargo de Oliveira

**Perfil lipídico plasmático e transferência de lípidos para lipoproteínas de  
alta densidade (HDL) em pacientes restritos ao leito em cuidados  
prolongados**

São Paulo  
2016

Wilson Pascoalino Camargo de Oliveira

**Perfil lipídico plasmático e transferência de lípidos para lipoproteínas de alta densidade (HDL) em pacientes restritos ao leito em cuidados prolongados**

Versão corrigida da Dissertação conforme resolução CoPGr 6018.  
Original encontra-se disponível no Serviço de Pós-Graduação da FCF/USP

Dissertação para obtenção do título de Mestre  
Apresentada ao programa de Pós-graduação  
em Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia)

Área de concentração: Análises Clínicas

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr.

Raul Cavalcante Maranhão

São Paulo  
2016

**Ficha Catalográfica**  
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e  
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

O48p Oliveira, Wilson Pascoalino Camargo de  
Perfil lipídico plasmático e transferência de lípidos para lipoproteínas de alta densidade (HDL) em pacientes restritos ao leito em cuidados prolongados / Wilson Pascoalino Camargo de Oliveira. -- São Paulo, 2016.  
62p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.

Orientador: Maranhão, Raul Cavalcante

1. Bioquímica clínica : Medicina 2. Lipídeos : Metabolismo  
3. Nanopartículas 4. Lipoproteínas HDL I. T. II. Maranhão, Raul Cavalcante, orientador.

616.0756 CDD

Wilson Pascoalino Camargo de Oliveira

Perfil lipídico plasmático e transferência de lípidos para lipoproteínas de alta densidade (HDL) em pacientes restritos ao leito em cuidados prolongados

Banca examinadora da  
Dissertação para obtenção do título de Mestre

Professor Dr. Raul Cavalcante Maranhão  
Orientador/Presidente

Profº. Dr. \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_  
Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Profº. Dr. \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_  
Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Profº. Dr. \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_  
Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

São Paulo, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2016.

### **Dedicatória**

Dedico à minha amada esposa Flávia Camargo, com amor, admiração e gratidão por sua colaboração, incentivo desde o início. Verdadeiramente você é o favor de Deus na minha vida. Dedico também a nossa filha Isabelli Camargo, a herança que Deus nos deu, te amo família.

## AGRADECIMENTOS

Sou grato a Deus por me abençoar com toda sorte de bênçãos permitindo mais esta conquista.

Aos meus pais Deraldo Santos de Oliveira (*in memorian*) e Maria de Lourdes de Oliveira por compreenderem minha ausência.

À minha família Flávia Camargo e Isabelli Camargo de Oliveira pelo companheirismo e apoio no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof<sup>o</sup> Dr. Raul Cavalcante Maranhão por me aceitar como aluno no Laboratório de Metabolismo e lípidos. Pelos excelentes ensinamentos e discussões nas reuniões acadêmicas sempre nos fazendo refletir e crescer como alunos. Agradeço pela orientação e o suporte para desenvolvimento deste trabalho. Muito Obrigado Professor.

À Dra. Fátima Rodrigues Freitas, que me acolheu desde o início e contribuiu com o meu crescimento e desenvolvimento na pós-graduação e na elaboração do trabalho.

À MSc. Thauny Martins Tavoni que me apoiou, incentivou e contribuiu no desenvolvimento deste trabalho.

Aos profissionais e alunos do Laboratório de Metabolismo e Lípidos do InCor, em especial à Josefa Maria da Hora Silva Lima que contribuiu com a parte experimental deste trabalho, meu muito obrigado.

Aos profissionais da Enfermagem do Hospital auxiliar de Suzano que colaboraram com a coleta de amostras.

Às profissionais do laboratório do Hospital auxiliar de Suzano que colaboraram com a logística das amostras coletadas.

À aluna Bruna Miranda, me auxiliou com a parte experimental do trabalho.

À Camila da Silva Hahn que foi importante para a concretização desta pós-graduação, meu muito obrigado.

“Todas as coisas são trabalhosas; o homem não o pode exprimir; os olhos não se fartam de ver,  
nem os ouvidos se enchem de ouvir”.

**Salomão**



## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>3</b>
<b>2. OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>10</b>
2.1 Objetivos específicos.....	10
<b>3. MÉTODOS.....</b>	<b>11</b>
3.1 Casuística.....	11
3.2 Determinações Bioquímicas.....	13
3.3 Ensaio de LDL oxidada.....	14
3.4 Preparo da nanopartícula lipídica artificial.....	14
3.5 Ensaio de transferência de lípidos da nanopartícula lipídica artificial para HDL.....	15
3.6 Determinação da concentração de CETP e LCAT.....	16
3.7 Determinação das citocinas inflamatórias.....	16
3.6 Análise estatística.....	17
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>18</b>
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>28</b>
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>36</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>37</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>45</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABCA1	<i>ATP-binding cassette A1</i> (transportador ABCA1)
Apo A-I	Apolipoproteína A-I
CETP	Proteína de transferência de éster de colesterol
CL	Colesterol livre
CT	Colesterol total
DAC	Doença arterial coronária
EC	Éster de colesterol
FL	Fosfolípidos
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HDL- C	Colesterol da lipoproteína de alta densidade
IMC	Índice de massa corporal
LCAT	Lecitina colesterol aciltransferase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDL-C	Colesterol da lipoproteína de baixa densidade
LDLox	LDL oxidada
MCP 1	Proteína quimiotática de monócitos-1
PLTP	Proteína de transferência de fosfolípidos
PON 1	Paraoxonase1
SR-B1	<i>Scavenger receptor class B member1</i> (receptor SR-B1)
TRC	Transporte reverso do colesterol
TG	Triglicérides
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Características dos pacientes acamados e indivíduos sedentários.....	19
Tabela 2- Transferência de lípides (%) da nanopartícula para HDL de pacientes acamados e indivíduos sedentários.....	20
Tabela 3- Transferência de lípides (%) da nanopartícula normalizados pela concentração de HDL-C ou apo A-I (mg/dL) em pacientes acamados e em indivíduos sedentários.....	20
Tabela 4- Características das citocinas inflamatórias dos pacientes acamados e indivíduos sedentários.....	21
Tabela 5- Caracterização dos pacientes por tempo acamado e indivíduos sedentários.....	22
Tabela 6- Características dos pacientes por tempo acamado e indivíduos sedentários.....	23
Tabela 7- Transferência de lípides (%) da nanopartícula para HDL de pacientes por tempo acamado e indivíduos sedentários.....	24
Tabela 8- Características dos pacientes acamados por recebimento de dieta e indivíduos sedentários.....	25
Tabela 9- Transferência de lípides (%) da nanopartícula para HDL dos pacientes acamados por recebimento de dieta e indivíduos sedentários.....	26
Tabela 10- Correlações entre as transferências de lípides e os parâmetros clínicos dos pacientes acamados.....	27

## RESUMO

OLIVEIRA, W.P.C. **Perfil lipídico plasmático e transferência de lípidos para lipoproteínas de alta densidade (HDL) em pacientes restritos ao leito em cuidados prolongados.** 2016. 62f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

**Introdução:** Os efeitos do treinamento físico sobre o metabolismo de lípidos têm sido bastante estudados, mas a situação diametralmente oposta, qual seja, a de pacientes acamados sob cuidados prolongados, tem sido pouco investigada. A avaliação de possíveis impactos derivados da imobilização é importante, pois o período de restrição ao leito pode gerar fatores de risco aterogênicos. Outro ponto relevante é a concentração e o aspecto funcional da HDL, que é fator de proteção anti-aterogênico e estudos têm mostrado a concentração diminuída em indivíduos sedentários. **Objetivo:** Investigar os efeitos da imobilização prolongada sobre o perfil de lípidos, apolipoproteínas e a transferência de lípidos para a HDL em pacientes acamados. **Métodos:** Foram estudados 23 pacientes acamados por um período maior que 90 dias de internação no Hospital Auxiliar de Suzano do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP. Foram avaliados o perfil lipídico, a concentração das apolipoproteínas, CETP, LCAT e LDL oxidada. No ensaio de transferência de lípidos, as amostras de plasma foram incubadas com a nanopartícula artificial marcada com  $^3\text{H}$ -éster de colesterol,  $^{14}\text{C}$ -fosfolípidos,  $^3\text{H}$ -triglicérides e  $^{14}\text{C}$ -colesterol livre. A quantificação da transferência de lípidos da nanopartícula foi feita após a precipitação da fração não HDL. Os dados dos pacientes acamados foram comparados com os obtidos de 26 voluntários sedentários saudáveis, pareados por idade e sexo. **Resultados:** A média de internação dos acamados foi de 817 dias. As concentrações de colesterol não-HDL ( $148 \pm 36$  vs  $125 \pm 40$  mg/dL,  $p < 0,05$ ), LDL-C ( $124 \pm 31$  vs  $96 \pm 36$  mg/dL,  $p < 0,01$ ), HDL-C ( $45 \pm 10$  vs  $36 \pm 13$  mg/dL,  $p < 0,01$ ) foram menores no grupo acamado, enquanto que os triglicérides foram iguais entre os grupos. A apo A-I ( $134 \pm 20$  vs  $111 \pm 24$  mg/dL) foi menor nos acamados ( $p < 0,01$ ), e a apo B não apresentou diferença entre os grupos. A LDL oxidada ( $53 \pm 13$  vs  $43 \pm 12$  mg/dL) foi menor no grupo acamado ( $p < 0,05$ ), enquanto que a CETP e LCAT não diferiu entre os grupos. As transferências para HDL de éster de colesterol ( $6,24 \pm 1,1\%$  vs  $4,80 \pm 1,2\%$ ), colesterol livre ( $4,04 \pm 1,1\%$  vs  $3,05 \pm 1,1\%$ ), fosfolípidos ( $19,06 \pm 1,3\%$  vs  $17,32 \pm 2,0\%$ ) e triglicérides ( $3,65 \pm 0,7\%$

vs  $3,06 \pm 0,6\%$ ) estavam diminuídas nos acamados comparado ao grupo sedentário ( $p < 0,01$ ).

**Conclusões:** O sedentarismo extremo dos pacientes acamados afetou a concentração do HDL-C, apo A-I e as transferências lipídicas da nanopartícula para HDL. Mesmo a menor atividade física exercida no dia-a-dia dos sedentários pode ser determinante na concentração e no metabolismo da HDL. Apesar da menor concentração do LDL-C e os triglicérides não serem diferentes dos sedentários, o status de HDL mostrou-se alterado nos acamados. Devido à importante função anti-aterogênica da HDL, essas alterações metabólicas devem ser um motivo de atenção adicional na assistência a esses pacientes para a prevenção de eventos cardiovasculares.

**Palavras chave:** Bioquímica clínica: Medicina, Lipídeos: Metabolismo, Nanopartículas, Lipoproteínas HDL.

## ABSTRACT

OLIVEIRA, W.P.C. **The Plasma lipids profile and lipid transfer to high density lipoproteins (HDL) in long-term care bedridden patients.** 2016. 62p. Dissertation (Master Degree) [Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo], 2016.

**Introduction:** The effects of physical training on lipid metabolism have been deeply studied, but the diametrically opposite situation such as the long-term care bedridden patients, has been little investigated. The evaluation of immobilization impacts is important, because the bedridden period may take to atherogenic risk factors. Another relevant point is the concentration and functional aspects of HDL, that is an anti-atherogenic protection factor and studies have shown lower concentration in sedentary subjects. **Objective:** To investigate the effects of long-term immobilization on lipid profile, apolipoproteins and lipid transfer to HDL in bedridden patients. **Methods:** Twenty-three bedridden patients under a period over than 90 days from the Auxiliary Hospital of the University of São Paulo Medical School in the city of Suzano, state of São Paulo were selected for the study. The lipid profile, apolipoproteins, CETP, LCAT and oxidized LDL concentration were evaluated. In the lipid transfer assay, the plasma samples were incubated with an artificial nanoparticle labeled with  $^3\text{H}$ -cholesteryl-esters,  $^{14}\text{C}$ -phospholipids,  $^3\text{H}$ -triglycerides and  $^{14}\text{C}$ -unesterified cholesterol. The lipids transferred from nanoparticle to HDL were quantified in the supernatant after chemical precipitation of non-HDL fractions. Data from bedridden patients were compared with those obtained from 26 healthy sedentary volunteers, paired for age and sex. **Results:** The average of hospitalization period of the bedridden was 817 days. The concentration of non-HDL cholesterol ( $148\pm 36$  vs  $125\pm 40$  mg/dL,  $p<0.05$ ), LDL-C ( $124\pm 31$  vs  $96\pm 36$  mg/dL,  $p<0.01$ ), HDL-C ( $45\pm 10$  vs  $36\pm 13$  mg/dL,  $p<0.01$ ), were lower in bedridden group, whereas the triglycerides were equal between the groups. The apo A-I ( $134\pm 20$  vs  $111\pm 24$  mg/dL) was lower in bedridden ( $p<0.01$ ), and the apo B was not different between the groups. The oxidized LDL ( $53\pm 13$  vs  $43\pm 12$  mg/dL) was lower in bedridden group ( $p<0.05$ ), whereas the CETP and LCAT was not different between the groups. The lipid transfer to HDL of cholesteryl-esters ( $6.24\pm 1.1\%$  vs  $4.80\pm 1.2\%$ ), unesterified cholesterol ( $4.04\pm 1.1\%$  vs  $3.05\pm 1.1\%$ ), phospholipids ( $19.06\pm 1.3\%$  vs  $17.32\pm 2.0\%$ ) and triglycerides ( $3.65\pm 0.7\%$  vs  $3.06\pm 0.6\%$ ) were decreased in bedridden patients compared to sedentary group ( $p<0.01$ ). **Conclusions:** The

extreme sedentary of bedridden patients affected the HDL-C and apo A-I concentration and the lipid transfer from nanoparticle to HDL. Even the low levels of physical activity exerted in the day-to-day life of sedentary subjects can be determinants of HDL concentration and metabolism. Despite their lower LDL-C and the triglycerides not different from sedentary subjects, the HDL status was clearly further altered in the bedridden. Due to the important anti-atherogenic functions of HDL, those metabolic alterations should be an additional matter of concern in the management of those patients to prevent cardiovascular events.

**Keywords:** Clinical biochemistry: Medicine, Lipids: Metabolism, Nanoparticles, Lipoproteins HDL.

## 1. INTRODUÇÃO

A avaliação do perfil lipídico e de apolipoproteínas no plasma de pacientes acamados sob cuidados prolongados são escassos. Esses pacientes apresentam limitações neurológicas, ou motoras crônicas decorrentes de sequelas por traumas, procedimento cirúrgico, acidentes, entre outras que os limitam ao leito. Mesmo apresentando clínica estável, eles estão em uma condição extremamente sedentária por diminuição ou ausência da mobilidade física que os restringe de realizar as atividades da vida diária.

A inatividade física nos acamados pode levar ao desenvolvimento de uma demanda energética mínima necessária para manutenção da vida, com conseqüente redução da massa muscular que ocorre nas primeiras semanas e meses de imobilidade (DITTMER; TEASELL, 1993). Em indivíduos com restrição de mobilidade devido à lesão da medula espinhal (LME), tem sido relatada diminuição de massa magra, principalmente em membros inferiores e aumento do tecido adiposo. Essa redução na massa muscular ocorre por perda do controle central e é proporcional a redução do gasto energético (GORGEY et al., 2014; MYERS et al., 2007).

Nesses indivíduos, quanto mais alta a lesão na medula espinhal, como em lesões cervicais (C1 a C4), mais extensa é a gama das limitações que podem incluir perda de sensibilidade ou controle motor dos membros inferiores e superiores e do tronco, bem como a perda de autonomia (involuntária) e regulação do corpo que pode afetar a respiração, frequência cardíaca, pressão arterial, controle de temperatura (WHO, 2013).

É importante a avaliação de como a imobilização prolongada decorrente da restrição pode afetar os lípidos plasmáticos. No entanto, dados sobre a incidência de fatores de risco para aterosclerose e outras doenças cardiovasculares, nos acamados em cuidados prolongados são escassos. Em geral, os estudos sobre a inatividade física e a imobilização avaliam apenas indivíduos saudáveis em repouso experimental no leito ou com redução da mobilidade decorrente de LME (YANAGIBORI et al., 1998; MAZZUCO et al., 2010; BAUMAN et al., 1999).



Tem sido descrito aumento do risco de eventos cardiovasculares em indivíduos jovens com LME comparado com controles saudáveis. As causas desse aumento incluem diabetes mellitus, hipertensão, menor concentração de colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-C), dislipidemia, além do estilo de vida sedentário e restrição da função física associada com a perda da função motora (BAUMAN; SPUNGEN, 2008; MYERS; LEE; KIRATLI, 2007; HUSSAIN et al., 2016).

Os pacientes acamados em cuidados prolongados podem apresentar alteração de marcadores inflamatórios, uma vez que utilizam dispositivos médicos durante a hospitalização e esses podem alterar o perfil inflamatório, mesmo sem a presença de infecção aguda. Elevados níveis de citocinas pró-inflamatórias estão presentes em indivíduos com imobilidade por LME, mesmo sem complicações médicas secundárias (DAVIES; HAYES; DEKABAN, 2007). As concentrações de IL-6 e TNF- $\alpha$  estão elevadas nesses indivíduos comparados a sedentários saudáveis (DAVIES; HAYES; DEKABAN, 2007).

Bauman et al. (1999) avaliaram 320 indivíduos com diferentes graus de imobilidade devido à LME e mostraram que os níveis de colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e os triglicérides (TG) estavam reduzidos em comparação com sedentários saudáveis, no entanto a concentração do HDL-C, que é protetor contra eventos cardiovasculares, também estava diminuída.

Mazzucco et al. (2010) avaliaram o efeito do repouso no leito induzido em 24 indivíduos saudáveis. Após o período experimental de 35 dias de inatividade física, houve um aumento da concentração de TG e diminuição do HDL-C, sem alteração da porcentagem de gordura corporal. Do mesmo modo, 20 dias de repouso no leito também diminuiu a concentração de HDL-C e aumentou os TG de 10 indivíduos saudáveis (YANAGIBORI et al., 1998). Em outro estudo, 31 indivíduos do sexo masculino submetidos a repouso no leito por 28 dias apresentaram diminuição da concentração do HDL-C. (BROOKS et al., 2014).

A atividade física regular é um poderoso fator de modificação dos lípides plasmáticos e de proteção cardiovascular. A prática de exercício aeróbico promove efeitos positivos no perfil

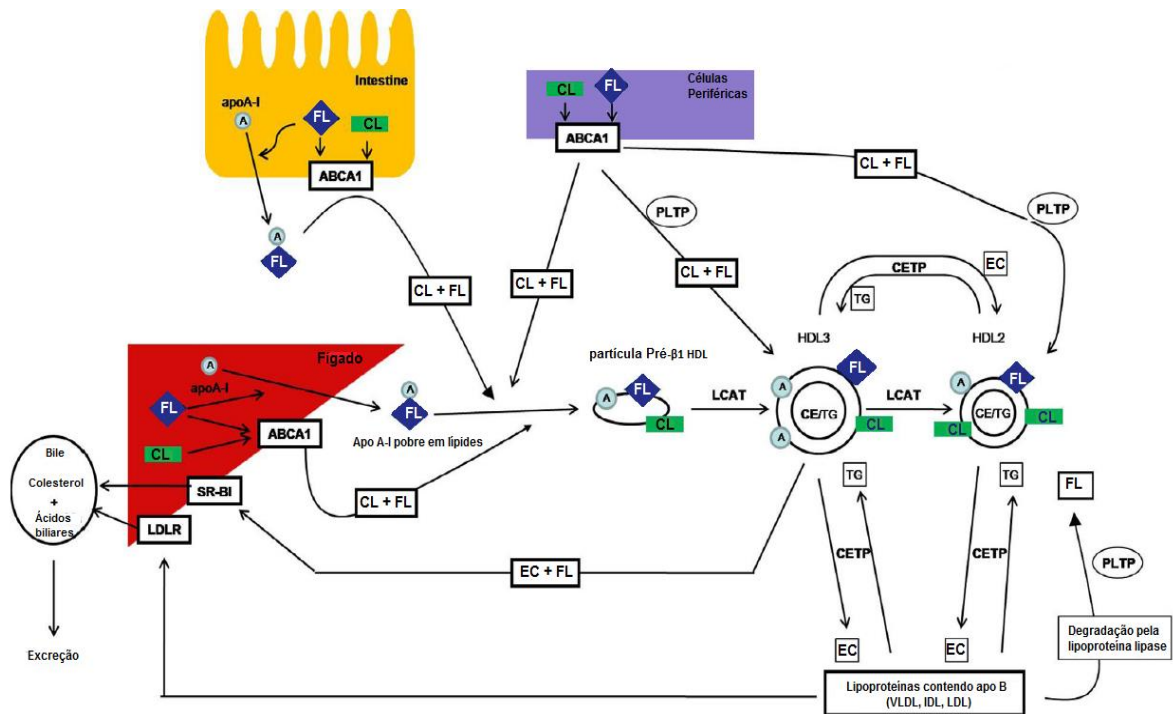
lipídico, com diminuição das concentrações de TG e LDL-C, mesmo em indivíduos sedentários submetidos a 24 semanas de exercícios regulares (HALVERSTADT et al., 2007). Do mesmo modo, indivíduos praticantes de exercício físico aeróbico apresentaram maior resistência a modificações da LDL, incluindo oxidação, comparado com indivíduos sedentários (SÁNCHEZ-QUESADA et al., 1997). Além disso, outros estudos têm relatado efeitos benéficos do exercício não apenas na concentração do HDL-C, mas também no metabolismo e função desta lipoproteína (VINAGRE, C. et al., 2007; VAISBERG et al., 2012).

O metabolismo da HDL é mais complexo do que das outras lipoproteínas, pois a HDL é formada no plasma a partir da lipidação da apolipoproteína A-I (apo A-I) que tem origem principalmente no fígado e em menor quantidade no intestino (Figura 1). No plasma a apo A-I pobre em lípidos recebe o colesterol livre e os fosfolípidos em um processo que envolve os transportadores *ATP-binding cassette A1* (ABCA1), formando as partículas de HDL discoides (pré- $\beta$  HDL), que consiste em apolipoproteína, fosfolípidos, e colesterol livre (BARTER et al., 2003).

Em um processo passivo, a HDL discoide também adquire colesterol livre das outras lipoproteínas que contêm apo B e de membranas celulares. Além disso, a HDL discoide contém apo A-I que é substrato para a enzima lecitina colesterol acil-transferase (LCAT) que esterifica colesterol na partícula formando um núcleo de éster de colesterol. Esse processo converte a HDL na forma esférica, que forma a maior parte da fração HDL no plasma. Devido às características hidrofóbicas, a esterificação desloca o colesterol para o centro da partícula de HDL (NELSON; COX, 2006; WANG; BRIGGS, 2004).

O remodelamento da HDL também é promovido pela proteína de transferência de fosfolípidos (PLTP), que favorece o efluxo de fosfolípidos das células periféricas para a HDL, e proteína de transferência de colesterol éster (CETP) que transfere colesterol éster da HDL para as lipoproteínas contendo apo B em troca dos triglicérides (TG) (MARANHÃO; FREITAS, 2014). No processo mediado pela CETP, o éster de colesterol é transferido do núcleo hidrofóbico das HDL para as lipoproteínas que contem apo B. Estas lipoproteínas, por sua vez, transferem TG para as HDL. Essa transferência é bidirecional e depleta éster de colesterol da HDL enriquecendo-

as de TG. Esse processo favorece a ligação da HDL aos receptores *scavenger receptor class B member 1* (SR-B1) no fígado, onde a remoção da HDL e seus constituintes ocorrem por hidrólise catalisada por lipases e o seu conteúdo de colesterol é excretado na bile. (RASHID et al., 2003; NORATA et al., 2006; BARTER et al., 2003; MARANHÃO; FREITAS, 2014).



**Figura 1** – Metabolismo da HDL e o transporte reverso do colesterol (TRC). A apolipoproteína A-I (apo AI) pobre em lipídios recebe o colesterol livre (CL) e os fosfolípidos (FL) em um processo que envolve os transportadores *ATP-binding cassette A1* (ABCA1) e formam as partículas pré-β HDL. Em um processo passivo, a pré-β HDL também adquire CL das outras lipoproteínas e membranas celulares. A enzima lecitina colesterol aciltransferase (LCAT) esterifica colesterol na partícula, convertendo a HDL na forma esférica. A proteína de transferência de fosfolípidos (PLTP) favorece o efluxo de FL das células periféricas para a HDL e a proteína de transferência de colesterol éster (CETP) transfere CL da HDL para as lipoproteínas contendo apo B em troca dos triglicérides (TG). No passo final do processo de transporte reverso do colesterol, o éster de colesterol (EC) da HDL é transportado para o fígado onde os receptores *scavenger receptor class B member1* (SR-B1) capta partícula, e o colesterol é excretado na bile. Adaptado Maranhão; Freitas, 2014.

A transferência de lípidos entre as classes de lipoproteínas depende de vários fatores, tais como da estrutura e concentração das lipoproteínas doadora e receptora e da ação das proteínas de transferência CETP e PLTP (FERRETTI et al., 2006; NORATA; PIRILLO; CATAPANO, 2006; LAMARCHE; RASHID; LEWIS, 1999; RASHID et al., 2003).

A HDL é, portanto, constantemente remodelada e a transferência de lípidos é essencial para o papel dessa lipoproteína na esterificação do colesterol e no transporte reverso do colesterol. A esterificação estabiliza a concentração plasmática do colesterol, enquanto que o transporte reverso permite o transporte do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado e sua eliminação pela bile. Ambos os processos são interligados sendo, portanto, chave para a homeostase do colesterol no organismo (MARANHÃO; FREITAS, 2014).

Além do seu papel na esterificação e no transporte reverso do colesterol, a HDL tem atividade anti-inflamatória, antitrombótica, vasodilatadora e antioxidante. A ação antioxidante da HDL inibe a oxidação da LDL e a produção de lípidos peroxidados que induzem a proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) e a adesão de monócitos ao endotélio, reduzindo o desenvolvimento da aterosclerose. Esses efeitos positivos são devidos à associação da HDL com as enzimas paraoxonase1 (PON 1), ou factor activador de plaquetas acetilhidrolase (PAF-AH), que previne a morte celular do endotélio induzidas pela LDL oxidada (WANG; BRIGGS, 2004; NORATA; PIRILO; CATAPANO, 2006; FEIG; SHAMIR; FISHER, 2008).

A cinética da LDL foi estudada em 24 indivíduos praticantes de exercício aeróbico comparado com um grupo de 20 indivíduos sedentários (VINAGRE, C et al., 2007). No estudo, os dois grupos receberam nanopartícula endovenosa e a remoção desta foi mais rápida nos praticantes de exercício apesar das concentrações de LDL-C serem semelhantes em ambos. Essa lentificação na remoção nos sedentários pode favorecer a maior oxidação da lipoproteína, o que foi evidenciado pela maior concentração da LDL oxidada nos indivíduos sedentários comparados aos praticantes de exercício (VINAGRE, C et al., 2007).

Recentemente, uma nova metodologia foi desenvolvida para avaliar simultaneamente *in vitro* as transferências dos quatro principais lípidos para a HDL (LO PRETE et al., 2009). Neste

ensaio, uma nanopartícula artificial é usada como doadora de lípidos para a HDL. Após incubação da nanopartícula contendo os quatro lípidos marcados radioativamente ( $^3\text{H}$ - éster de colesterol,  $^{14}\text{C}$ -fosfatidilcolina,  $^3\text{H}$ -triglicerídeos e  $^{14}\text{C}$ -colesterol livre) com o plasma, a HDL é separada no sobrenadante por precipitação química das outras lipoproteínas e da nanopartícula artificial. A transferência de lípidos da nanopartícula para a fração HDL é medida quantificando-se a radioatividade no sobrenadante após a incubação (LO PRETE et al., 2009). Além da grande praticidade na realização do teste, o método tem a vantagem de medir simultaneamente a transferência dos quatro principais lípidos que compõem a HDL, o que dá uma visão integrada deste processo essencial no metabolismo da lipoproteína.

Esta abordagem foi utilizada para se investigar o metabolismo da HDL em diversas situações patológicas, tais como: em pacientes com hipercolesterolemia familiar (MARTINEZ et al., 2013), com hipotireoidismo (SIGAL et al., 2011), com diabetes mellitus (FEITOSA-FILHO et al., 2009, SILVA, V. et al., 2014; LAVERDY et al., 2015), com síndrome metabólica (CASELLA-FILHO et al., 2011) e com doença arterial coronária (DAC) (AZEVEDO et al., 2011; LO PRETE et al., 2009; MARANHÃO et al., 2012; SPRANDEL et al., 2015) e pós-transplante cardíaco (PUK et al., 2009). De modo geral, esses pacientes apresentavam uma diminuição da transferência de colesterol livre para HDL.

A transferência de lípidos também tem sido avaliada em outras situações não patológicas, como exercício físico, envelhecimento e dieta (VINAGRE, C. et al., 2007; da SILVA et al., 2011; VAISBERG, et al. 2012; AZEVEDO, et al., 2011; VINAGRE, J. et al., 2013). Verificou-se que o exercício aeróbico promove o aumento das transferências lipídicas de colesterol livre, fosfolípidos e TG, que é inibido durante a prática de exercício físico extenuante, como é o caso da corrida de maratona (VAISBERG et al., 2012). No entanto, as transferências lipídicas em indivíduos jovens saudáveis praticantes regulares de exercícios de resistência não apresentaram diferença significativa quando comparados a sedentários saudáveis pareados por idade (da SILVA, et al., 2011).

O efeito do treinamento físico de curto prazo sobre as transferências também foi analisado em pacientes com a síndrome metabólica. Mesmo sem qualquer orientação nutricional específica,

após o treinamento aeróbico houve um aumento na capacidade de partículas HDL em receber colesterol livre e éster de colesterol, embora não houve alterações na concentração de HDL-C (CASELLA-FILHO et al., 2011).

Apesar dos estudos de transferência de lípidos nas situações patológicas citadas e também com indivíduos praticantes de exercício, os efeitos da imobilização prolongada no leito sobre as transferências lipídicas ainda não foram avaliados, sendo relevante conhecer os efeitos dessa condição de sedentarismo extremo.

Além de determinar o perfil plasmático dos lípidos e apolipoproteínas, a avaliação de fatores paralelos ao processo de transferência de lípidos, como o status da CETP e LCAT no plasma e outros fatores relacionados à imobilidade no leito como a avaliação de possíveis alterações relacionadas ao processo inflamatório, irá completar um quadro dinâmico e integrativo para a interpretação das prováveis modificações de transferência de lípidos em pacientes acamados com imobilização prolongada, o que pode elevar a probabilidade de desenvolvimento de DAC, comparado com indivíduos sedentários saudáveis normolipidêmicos.

## **2. OBJETIVO GERAL**

O objetivo do estudo foi investigar os efeitos da imobilização prolongada sobre o perfil de lípidos, apolipoproteínas e a transferência para a HDL dos quatro principais lípidos plasmáticos em pacientes acamados comparado com indivíduos sedentários.

### **2.1. Objetivos específicos**

- Determinar o perfil lipídico (LDL-C, HDL-C, colesterol total e TG).
- Determinar a concentração das apolipoproteínas A-I e B.
- Determinar a concentração da LDL oxidada.
- Avaliar a transferência do colesterol livre, éster de colesterol, fosfolípidos e triglicérides de uma nanopartícula lipídica artificial para a fração HDL.
- Determinar a concentração da CETP e LCAT.

### 3. MÉTODOS

#### 3.1 Casuística

A população do estudo foi composta por 23 pacientes (18 do sexo masculino e 05 do sexo feminino), com idade entre 30 e 65 anos, internados para cuidados prolongados por um período superior a 90 dias de internação, selecionados das enfermarias do Hospital Auxiliar de Suzano do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – HASS- HCFMUSP. O hospital é retaguarda do HCFMUSP e recebe pacientes de todos os institutos do complexo HCFMUSP para reabilitação e cuidados prolongados.

Os pacientes apresentavam clínica estável, necessitando de reabilitação e/ou adaptação clínica e funcional a sequelas decorrentes de prévio processo traumatológico ou cirúrgico. Os principais motivos de imobilização dos pacientes foram sequela neurológica pós-trauma crânio encefálico, trauma raquimedular e sequelas decorrente de procedimento cirúrgico. A mobilidade destes no leito era reduzida ou totalmente ausente devido a comprometimento físico, neurológico ou motor. Os pacientes realizavam sessões de fisioterapia no leito para mobilização passiva de membros inferiores e fisioterapia respiratória três vezes na semana por aproximadamente 30 minutos, o que lhes confere a condição de extremamente sedentários comparados com indivíduos sedentários, que mesmo não realizando exercício físico regular, realizam suas atividades da vida diária.

A ingesta alimentar dos pacientes era realizada pela via oral (n=08) ou através de sonda gástrica, nasogástrica ou nasoenteral (n=15). A terapia nutricional para os pacientes que se alimentam via oral era do tipo geral sem restrições específicas por apresentarem funções de mastigação e gastrintestinais preservadas. No presente estudo, apenas um paciente conseguia alimentar-se sozinho, os demais necessitavam que as refeições lhe fossem ofertadas pela equipe de enfermagem. As refeições eram fracionadas em cinco momentos, sendo: desjejum, almoço, lanche da tarde, jantar e lanche da noite. A distribuição calórica desse tipo de nutrição era



constituída por 55% de carboidratos, 15% de proteínas e 30% de lípidos, perfazendo a média de 2.500 kcal/dia, porém a quantidade total ingerida dependia da aceitação de cada paciente à dieta.

Os pacientes que se alimentavam pela via enteral recebiam fórmula polimérica isenta de lactose, sacarose e glúten, com média de 0,78 a 1,2 kcal/mL distribuídas em 15% de proteínas (caseinato de cálcio, proteína isolada de soja e soro do leite), 55% de carboidratos (maltodextrina) e 30% de lípidos (óleo de canola, de milho e lecitina de soja), fracionadas de 200 a 300 ml em seis vezes ao dia, perfazendo a média de 1543 kcal/dia, variando de acordo com a necessidade individual de cada paciente, no entanto toda a dieta ofertada era recebida pelo paciente.

Os critérios de não-inclusão no estudo foram:

- Infecção aguda independente da etiologia;
- Uso de antibioticoterapia;
- Uso de anti-inflamatórios esteroides e não esteroides;
- Uso de fibratos;
- Uso de estatinas;
- Doenças crônico-degenerativas;
- Hipertensão arterial grave (> 180/110 mmHg);
- Tireoidopatias;
- Insuficiência renal (concentrações plasmáticas de creatinina, acima dos valores de referência);
- Insuficiência hepática (atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gama glutamil transferase ( $\gamma$ GT) e fosfatase alcalina acima dos valores de referência);
- Triglicérides acima do valor de 400 mg/dL;
- Hemorragias recentes;
- Trombocitopenia.

Os dados destes pacientes foram comparados aos obtidos de 26 indivíduos voluntários sedentários saudáveis (19 do sexo masculino e 07 do sexo feminino), normolipidêmicos, pareados por sexo e idade. Todos os participantes eram não fumantes, não alcoolistas, não diabéticos e não estavam sob tratamento com medicamentos hipolipemiantes, conforme critério de não inclusão, e se declararam sedentários, ou seja, não realizava exercícios físicos, exceto as atividades da vida diária.

Este projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - CAPPesq sob número 795.026/2014. Todos os participantes ou seus responsáveis legais assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

### **3.2 Determinações Bioquímicas**

As amostras de sangue foram obtidas de todos os participantes após um período de jejum de 12 horas, por punção de veia periférica. Para obtenção de plasma, utilizou-se tubo contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e para obtenção do soro foi utilizado tubo seco com gel. Para o exame de glicemia de jejum foi utilizado o tubo contendo fluoreto de sódio.

A determinação do perfil lipídico foi realizada na Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas DLC-HCFMUSP. A determinação da concentração plasmática de TG foi realizada utilizando método enzimático (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). O colesterol total foi determinado por método colorimétrico enzimático (Cholesterol Oxidase Phenol Ampyrone - CHOD-PAP, Merck KGaA, Darmstadt, Germany). O HDL-C foi determinado pelo mesmo método utilizado para o colesterol total, após precipitação química das lipoproteínas que contêm apo B, utilizando-se reagente precipitante constituído por cloreto de magnésio e ácido fosfotungstico. O LDL-C determinado pelo método cinético automatizado.

As concentrações plasmáticas de apo A-I e B foram determinadas através do método turbidimétrico (Roche, EUA).

### 3.3 Ensaio de LDL Oxidada

A LDL oxidada (LDLox) foi determinada pelo método de ensaio imunoensaio *enzyme-linked immunosorbent assay* - ELISA (Merckodia, Suécia). A técnica consiste de dois anticorpos monoclonais que competem por determinantes antigênicos não separados da molécula de apo B oxidada. Durante a incubação, a LDLox presente na amostra reage com anticorpos anti-LDLox ligados a microtúbulos no poço de uma placa. É realizada uma etapa de lavagem que remove componentes plasmáticos não reativos, um anticorpo conjugado com peroxidase anti-apo B reconhece a LDLox. Após uma segunda incubação, uma simples etapa de lavagem remove o anticorpo marcado com a enzima não ligada. O conjugado ligado é detectado pela reação com o substrato 3,3', 5,5' - tetrametilbenzidina (TMB). A reação é finalizada com a adição de ácido para dar um desfecho colorimétrico que é lido por espectrofotômetro.

No ensaio, foram pipetados 25 µL de cada calibrador, controles e amostras nos poços, e adicionados 100 µL de tampão de ensaio para cada poço. Posteriormente, a placa foi incubada no agitador de placas a 750 rpm por 2 horas. Em seguida, foram realizadas seis lavagens com tampão de lavagem. Foram adicionados 100 µL de enzima conjugada para cada poço, para incubação sob agitação por 1 hora. A placa foi novamente lavada (6x) como descrito anteriormente. Depois foram adicionados 200 µL de substrato TMB, incubado por 15 minutos em temperatura ambiente, e então adicionados 50 µL de solução de parada. Foi realizada a leitura em densidade óptica de 450nm. Os resultados expressos em U/L.

### 3.4 Preparo da nanopartícula lipídica artificial

A nanopartícula lipídica artificial foi preparada conforme técnica previamente descrita por GINSBURG; SMALL; ATKINSON, (1982) e modificada por MARANHÃO et al., (1993). Em um frasco foram pipetados 40 mg de fosfatidilcolina, 20 mg de oleato de colesterol, 1 mg de trioleína e 0,5 mg de colesterol, diluídos em clorofórmio: metanol (2:1). Posteriormente, foram adicionados à mistura de lípidos os isótopos <sup>3</sup>H- éster de colesterol e <sup>14</sup>C-fosfatidilcolina ou <sup>3</sup>H-

triglicerídeos e  $^{14}\text{C}$ -colesterol livre. Os isótopos radioativos foram provenientes da PerkinElmer Inc, Massachusetts, E.U.A. Os solventes residuais foram então evaporados da mistura sob fluxo de nitrogênio e dessecação a vácuo, por 16h, a  $4^{\circ}\text{C}$ . Após a adição de 10 mL de tampão Tris-HCl 0,01M pH 8, a mistura de lípides foi emulsificada por irradiação ultra-sônica, utilizando-se equipamento Branson, modelo 450A (Arruda Ultra-Som, São Paulo, Brasil) potência 125w, durante 3 horas, sob atmosfera de nitrogênio, com temperatura variando entre  $51$  a  $55^{\circ}\text{C}$ . A solução lipídica foi purificada em duas etapas de ultracentrifugação. Na primeira etapa, o material da parte superior do tubo, resultante da centrifugação a  $200.000\text{g}$  por 30 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$ , foi removido por aspiração (1 mL) e desprezado. Ao restante do material foi adicionado brometo de potássio (KBr) ajustando a densidade para  $1,21\text{g/mL}$ . Após a segunda centrifugação ( $200.000\text{g}$  por 2 horas a  $4^{\circ}\text{C}$ ), a nanopartícula lipídica artificial foi retirada no topo do tubo por aspiração. O excesso de KBr foi removido por diálise, contra 2 trocas de tampão Tris HCl 0,01M pH 8. Por fim, a emulsão foi esterilizada por filtração em membrana de  $0,22\ \mu\text{m}$  de porosidade sob fluxo laminar e armazenada a  $4^{\circ}\text{C}$  até sua realização do ensaio de transferência, por período não superior a 15 dias.

### **3.5 Ensaio de transferência de lípides da nanopartícula lipídica artificial para HDL**

As transferências dos principais lípides colesterol éster, colesterol livre, fosfolípides e TG da circulação para a HDL foi realizada através de ensaio *in vitro*, em que a nanopartícula artificial foi utilizada como doadora de lípides para a HDL. Após incubação da nanopartícula contendo os quatro lípides marcados radioativamente com o plasma dos indivíduos, a HDL foi separada por precipitação química das outras lipoproteínas e da nanopartícula artificial. A transferência dos lípides da nanopartícula para a fração HDL foi avaliada, quantificando-se a radioatividade no sobrenadante após a incubação (LO PRETE et al., 2009).

Uma alíquota de  $200\ \mu\text{L}$  de plasma dos participantes foi incubada com  $50\ \mu\text{L}$  da nanopartícula marcada com os lípides radioativos ( $^3\text{H}$ - éster de colesterol e  $^{14}\text{C}$ -fosfatidilcolina ou  $^3\text{H}$ -triglicerídeos e  $^{14}\text{C}$ -colesterol livre), a  $37^{\circ}\text{C}$ , sob agitação, durante 1 hora. Após esse

procedimento, foram adicionados 250  $\mu$ L de reagente precipitante (0,2% Dextran/0,3 mol/L  $MgCl_2$ ), seguida de agitação por 30 segundos e centrifugação a 3000rpm por 10 minutos. O sobrenadante contendo a HDL foi submetido à contagem da radioatividade presente, que corresponde à transferência dos lípides radioativos da nanopartícula para a HDL do indivíduo. Foi calculada a percentagem de transferência de cada um dos lípides radioativos, considerando como 100%, a radioatividade total utilizada na incubação. Os dados também foram apresentados após a correção pelas concentrações de HDL-C e apo A-I, ou seja, pela divisão dos resultados das transferências de cada lípides pela concentração de HDL-C ou pela concentração de apo A-I.

### **3.6 Determinação da concentração de CETP e LCAT**

A concentração da CETP e LCAT foi determinada pelo método de imunoenensaio da ALPCO Diagnostics (Salem, NH). No método, a CETP ou LCAT reagem com dois anticorpos monoclonais e a concentração das proteínas é proporcional à absorbância da amostra. A reação foi mensurada utilizando um leitor de microplaca (Victor™ X3, PerkinElmer Inc, Massachusetts, E.U. A).

### **3.7 Determinação das citocinas inflamatórias**

Foram analisadas as citocinas inflamatórias interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1), fator de crescimento de hepatócitos (HGF), fator de crescimento neural (NGF) através da técnica Luminex Milliplex® map (Merck Millipore, Massachusetts, E.U. A), que permite a quantificação multivariada de analitos simultaneamente em um único poço de reação em microplaca. Em síntese, foram adicionados à microplaca os controles e os padrões do kit e a amostra de soro de cada participante (conforme orientação do fabricante), seguido de incubação *overnight*. Após esta etapa foram realizadas três lavagens, sendo posteriormente adicionado o anticorpo de detecção, com incubação por uma hora. Em seguida, adicionou-se Streptavidina-

Phicoeritrina em cada poço. Após incubação por 30 minutos, realizaram-se três lavagens e adicionou-se solução de parada, sendo novamente incubado por 5 minutos. Ao final, a placa foi lida no Luminex 100/200TM System (Luminex, Texas, EUA) e o valor analisado pela Intensidade da Fluorescência Mediana.

### **3.8 Análise estatística**

Todos os dados obtidos nos grupos estudados foram comparados através de testes estatísticos apropriados, dependendo de sua distribuição, analisada pelo método de Kolmogorov e Smirnov. Para a comparação entre dois grupos, foi utilizado o teste t de Student não pareado, após confirmação de distribuição gaussiana. Para análises de três grupos, foi realizado ANOVA, seguido do pós-teste Student-Newman-Keuls. Os estudos de correlação foram efetuados através dos testes de Pearson. Em todas as análises efetuadas, os parâmetros analisados foram considerados significativamente diferentes quando  $p < 0,05$ . Os softwares utilizados para a realização das análises foram o GraphPad InStat 3.05 e GraphPad Prism 5.00.

#### 4. RESULTADOS

Os 23 pacientes acamados estavam internados por um período médio de  $817 \pm 931$  dias para assistência hospitalar prolongada. Apresentavam clínica estável, necessitando de assistência no leito por sequelas decorrente de trauma crânio encefálico (n=11), trauma raquimedular e tetraplegia (n=7), sequela de procedimento cirúrgico (n=4), sequela de Síndrome de Guillain-Barré (n=1). O índice de massa corporal (IMC) dos pacientes acamados foi menor que dos indivíduos sedentários (Tabela 1).

As características laboratoriais dos participantes estão expressas na Tabela 1. Observou-se que a concentração do colesterol total, não HDL-C, LDL-C e HDL-C, Apo A-I e LDL oxidada estavam diminuídas nos pacientes acamados comparados com os indivíduos sedentários. A glicemia e as concentrações de TG, Apo B, CETP e LCAT não foram diferentes entre os grupos.

**Tabela 1 - Características dos pacientes acamados e indivíduos sedentários.**

	Sedentário (n=26)	Acamado (n=23)	<i>P</i>
Idade (anos)	46±10	47±11	0,607
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	25,4±2,7	21,9±3,0	< <b>0,001</b>
Tempo acamado (dias)	--	817±931	--
Glicemia (mg/dL)	87 ± 11	91 ± 10	0,250
Colesterol (mg/dL)			
Total	193 ± 36	160 ± 43	<b>0,005</b>
Não HDL	148 ± 36	125 ± 40	<b>0,034</b>
LDL	124 ± 31	96 ± 33	<b>0,003</b>
HDL	45 ± 10	36 ± 13	<b>0,008</b>
Triglicérides (mg/dL)	121 ± 46	176 ± 72	0,152
Apolipoproteína (mg/dL)			
A-I	134 ± 20	111 ± 24	<b>0,001</b>
B	99 ± 22	93 ± 25	0,397
LDL oxidada (U/L)	53 ± 13	43 ± 12	<b>0,011</b>
CETP (µg/mL)	2,84 ± 1,1	3,44 ± 1,3	0,094
LCAT (µg/mL)	10,19 ± 2,5	9,02 ± 1,9	0,887

Dados expressos como média ± desvio padrão. IMC: índice de massa corporal HDL: Lipoproteína de alta densidade, LDL: Lipoproteína de baixa densidade, CETP: Proteína de transferência de éster de colesterol, LCAT: Lecitina colesterol aciltransferase.

Como mostrado na Tabela 2, as transferências de éster de colesterol, colesterol livre, fosfolípidos e TG estavam diminuídas no grupo acamado em comparação ao grupo sedentário. Quando os dados foram normalizados pela divisão da concentração de HDL-C ou apo A-I pela transferência de lípidos, as transferências de éster de colesterol, colesterol livre e triglicérides não foram diferentes entre os pacientes acamados e os indivíduos sedentários. Em relação à transferência de fosfolípidos que foi menor nos acamados do que nos sedentários, quando comparado com os resultados não normalizados, após a normalização tanto com HDL-C e apo A-I, o resultado foi maior nos acamados do que nos sedentários (Tabela 3).



**Tabela 2 - Transferência de lípides (%) da nanopartícula para HDL de pacientes acamados e indivíduos sedentários.**

	Sedentário (n=26)	Acamado (n=23)	<i>p</i>
Éster de colesterol	6,24±1,1	4,80 ± 1,2	<b>0,001</b>
Colesterol livre	4,04 ± 1,1	3,05 ± 1,1	<b>0,006</b>
Fosfolípides	19,06 ± 1,3	17,32 ± 2,0	<b>0,002</b>
Triglicérides	3,65 ± 0,7	3,06 ± 0,6	<b>0,009</b>

Dados expressos como média ± desvio padrão.

**Tabela 3 - Transferência de lípides (%) da nanopartícula normalizados pela concentração de HDL-C ou apo A-I (mg/dL) em pacientes acamados e em indivíduos sedentários**

	Sedentários (n=26)	Acamados (n=23)	<i>p</i>
Transferência de lípides/HDL-C			
Éster de Colesterol	0,144±0,032	0,144±0,039	0,9670
Colesterol livre	0,093±0,026	0,089±0,026	0,6733
Fosfolípides	0,444±0,093	0,537±0,157	<b>0,0134</b>
Triglicérides	0,085±0,025	0,094±0,029	0,2666
Transferência de lípides /apo A-I			
Éster de Colesterol	0,047±0,007	0,043±0,007	0,0695
Colesterol livre	0,030±0,007	0,027±0,006	0,1076
Fosfolípides	0,145±0,019	0,161±0,026	<b>0,0166</b>
Triglicérides	0,028±0,006	0,028±0,005	0,8306

Dados expressos como média ± desvio padrão

A Tabela 4 mostra a análise do perfil inflamatório dos participantes. Observa-se que as concentrações das interleucinas IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, fatores de crescimento de hepatócitos (HGF) e neurônios (NGF) estavam aumentados nos pacientes acamados comparado aos sedentários. A proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) não apresentaram diferença entre os grupos.

**Tabela 4 - Características das citocinas inflamatórias dos pacientes acamados e indivíduos sedentários.**

pg/mL	Sedentário (n=26)	Acamado (n=23)	<i>p</i>
HGF	759 $\pm$ 341	1708 $\pm$ 1082	<b>0,0001</b>
Interleucina-1 $\beta$	0,72 $\pm$ 0,38	3,06 $\pm$ 4,80	<b>0,0004</b>
Interleucina-6	2,58 $\pm$ 2,47	40,29 $\pm$ 47,27	<b>&lt;0,0001</b>
Interleucina-8	35,86 $\pm$ 58,7	159,76 $\pm$ 145,20	<b>0,0002</b>
NGF	4,68 $\pm$ 3,08	8,83 $\pm$ 5,95	<b>0,0001</b>
MCP-1	325 $\pm$ 168	320 $\pm$ 182	0,9291
TNF- $\alpha$	5,79 $\pm$ 3,18	9,24 $\pm$ 9,83	0,0570

Dados expressos como média  $\pm$  desvio padrão. HGF: fator de crescimento de hepatócitos, NGF: fator de crescimento neural, MCP-1: Proteína quimiotática de monócitos-1, TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral alfa.

Para avaliar se o tempo de imobilização influencia nos resultados obtidos, o grupo de pacientes acamados foi subdividido em dois grupos: menor ou maior do que 150 dias. Não houve diferença entre a média de idade entre os três grupos, enquanto que o IMC dos pacientes acamados foi menor que dos indivíduos sedentários independentemente do tempo de restrição ao leito (Tabela 5).

**Tabela 5 - Caracterização dos pacientes por tempo acamado e indivíduos sedentários.**

	Sedentário (n=26)	Acamado <150 dias (n=10)	Acamado >150 dias (n=13)	<i>p</i> (ANOVA)
Idade (anos)	46±10	45±10	49±11	0,6305
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	25,4±2,7	21,4±3,4*	22,2±2,9*	<b>&lt;0,001</b>
Tempo acamado (dias)	--	128 ± 15†	545 ± 278	<b>&lt;0,001</b>

Dados expressos como média ± desvio padrão. IMC, índice de massa corporal. Teste de múltiplas comparações por Student-Newman-Keuls. \* $p<0,001$  versus sedentário. †  $p<0,001$  versus acamado >150 dias.

Na tabela 6, observa-se que as concentrações de colesterol Total, LDL-C, HDL-C e apo A-I estavam diminuídas no grupo Acamado >150 dias em comparação ao grupo sedentário ( $p<0,01$ ). A concentração de LDL oxidada estava diminuída apenas no grupo acamado >150 dias em comparação ao grupo sedentário ( $p<0,05$ ). A concentração de glicose, não HDL-C, TG, apo B, CETP e LCAT foram semelhantes nos três grupos.

**Tabela 6 - Características dos pacientes por tempo acamado e indivíduos sedentários.**

	Sedentário (n=26)	Acamado <150 dias (n=10)	Acamado >150 dias (n=13)	<i>P</i> (ANOVA)
Glicemia (mg/dL)	87 ± 11	93 ± 10	89 ± 11	0,332
Colesterol (mg/dL)				
Total	193± 36	175 ± 43	149 ± 41**	<b>0,007</b>
Não HDL	148± 36	134 ± 39	117 ± 40	0,059
LDL	124± 31	107 ± 31	86 ± 33**	<b>0,004</b>
HDL	45±10	40±17	32±8**	<b>0,006</b>
Triglicérides (mg/dL)	121 ± 46	135 ± 52	154 ± 86	0,271
Apolipoproteína (mg/dL)				
A-I	134 ±20	116 ± 34*	107 ± 14**	<b>0,002</b>
B	99 ± 22	98 ± 24	89 ± 26	0,449
LDL oxidada (U/L)	53± 13	49 ± 13	43 ± 10*	<b>0,037</b>
CETP (µg/mL)	2,84 ± 1,1	3,44 ± 1,3	3,44 ± 1,3	0,249
LCAT (µg/mL)	10,19 ± 2,5	8,92 ± 2,0	9,01 ± 2,0	0,234

Dados expressos como média ± desvio padrão. Teste de múltiplas comparações por Student-Newman-Keuls. \*p<0,05 versus sedentário,\*\*p<0,01 versus sedentário. LDL: lipoproteína de baixa densidade, HDL: lipoproteína de alta densidade, CETP: Proteína de transferência de éster de colesterol, LCAT: Lecitina colesterol aciltransferase.

Como mostrado na Tabela 7, as transferências de éster de colesterol, colesterol livre, TG (p<0,01) e fosfolípides (p<0,05) estavam diminuídas no grupo Acamado >150 dias em comparação ao grupo sedentário. As transferências de éster de colesterol e fosfolípides apresentaram diminuição entre o grupo Acamado <150 dias em comparação ao grupo sedentário (p<0,01), mas não houve diferença entre as transferências de colesterol livre e TG nos pacientes acamados <150 dias em relação ao grupo sedentário. As transferências dos quatro lípides entre os grupos acamado por período maior ou menor que 150 dias não foram diferentes.

**Tabela 7 - Transferência de lípides (%) da nanopartícula para HDL de pacientes por tempo acamado e indivíduos sedentários.**

	Sedentário (n=26)	Acamado <150 dias (n=10)	Acamado >150 dias (n=13)	<i>p</i> (ANOVA)
Éster de colesterol	6,24±1,1	4,73± 1,6**	4,84±1,0**	<b>0,001</b>
Colesterol livre	4,04±1,1	3,28±1,3	2,86±0,7**	<b>0,006</b>
Fosfolípidos	19,06±1,3	17,02±2,3**	17,54±1,7*	<b>0,002</b>
Triglicérides	3,65±0,7	3,22±0,8	2,92±0,4**	<b>0,009</b>

Dados expressos como média ± desvio padrão. Teste de múltiplas comparações por Student-Newman-Keuls. \*p<0,05 versus sedentário, \*\* p<0,01 versus sedentário.

Para avaliar o impacto da idade dos pacientes sobre o perfil lipídico e transferências de lípides para a HDL, foi realizada a comparação dos pacientes acamados com idade menor que 50 anos (n=13) com os pacientes maiores de 50 anos (n=10). Não foi observada diferença significativa entre os dois grupos em relação aos parâmetros estudados.

Foi realizada divisão dos pacientes que recebiam dieta por sonda (n=15) e comparado com os acamados que recebiam dieta via oral (n=08). Não houve diferença estatística entre os grupos em relação à idade, porém os acamados que recebiam dieta por sonda apresentaram IMC menor comparados ao grupo sedentário (p<0,001), (Tabela 8).

A tabela 8 mostra que as concentrações do colesterol total, LDL-C, e apo A-I estavam diminuídas no grupo acamado que recebia dieta por sonda, em comparação ao grupo sedentário (p<0,05). A massa de CETP estava diminuída no grupo que recebia dieta via sonda comparado ao grupo que recebia dieta via oral (p<0,05). Enquanto que o LDL-C (p<0,05), HDL-C (p<0,01), apo A-I (p<0,001) e a CETP (p<0,05) estavam diminuídas no grupo acamado que recebia dieta via oral, em relação ao grupo sedentário. Não houve diferença estatística na concentração de glicemia, colesterol não HDL, triglicérides, apo B, LDL oxidada e LCAT entre os três grupos.

**Tabela 8 - Características dos pacientes acamados por recebimento de dieta e indivíduos sedentários.**

	Sedentário (n=26)	Acamado Dieta oral (n=08)	Acamado Dieta sonda (n=15)	<i>p</i> (ANOVA)
Idade (anos)	46±10	43±18	47±12	0,839
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	25,4±2,7	23,4 ± 2,7	21 ± 2,9***	<b>&lt;0,001</b>
Tempo acamado (dias)	-----	340 ± 290	376 ± 307	0,786
Glicemia (mg/dL)	88±11	90±12	91±10	0,504
Colesterol (mg/dL)				
Total	193±36	161±47	160±42*	<b>0,022</b>
Não HDL	148±36	131±44	121±38	0,090
LDL	124±31	97±33*	95±35*	<b>0,013</b>
HDL	45±10	30±10**	38±14	<b>0,006</b>
Triglicérides (mg/dL)	121±46	171±105	132±46	0,116
Apolipoproteína (mg/dL)				
A-I	134±20	97±24***	118±21 <sup>†</sup> *	<b>&lt;0,001</b>
B	99±22	95±26	92±26	0,676
LDL oxidada (U/L)	53 ±13	42± 11	44 ±12	0,400
CETP (µg/mL)	2,8±1,1	4,1±1,0*	3,0±1,2 <sup>†</sup>	<b>0,022</b>
LCAT (µg/mL)	10,1±2,5	8,5±1,5	9,2±2,1	0,191

Dados expressos como média ± desvio padrão. Teste de múltiplas comparações por Student-Newman-Keuls. \**p*<0,05 versus sedentário, \*\**p*<0,01 versus sedentário, \*\*\**p*<0,001 versus sedentário. <sup>†</sup>*p*<0,05 versus via oral. LDL: lipoproteína de baixa densidade, HDL: lipoproteína de alta densidade, CETP: Proteína de transferência de éster de colesterol, LCAT: Lecitina colesterol aciltransferase.

Como observado na tabela 9, as transferências de éster de colesterol (*p*<0,05), fosfolípides (*p*<0,01) estavam diminuídas no grupo acamado que recebia dieta via oral em comparação ao grupo que recebia via sonda. As transferências de todos os lípides para a HDL estavam diminuídas nos grupos acamados que recebia dieta via sonda e via oral, em relação ao grupo sedentário (Tabela 9).

**Tabela 9 - Transferência de lípides (%) da nanopartícula para HDL dos pacientes acamados por recebimento de dieta e indivíduos sedentários**

	Sedentário (n=26)	Acamado Dieta oral (n=08)	Acamado Dieta sonda (n=15)	<i>P</i> (ANOVA)
Éster de colesterol	6,24±1,1	3,94±1,0 <sup>†***</sup>	5,25±1,1 <sup>**</sup>	<b>0,0001</b>
Colesterol livre	4,03±1,0	2,47±0,9 <sup>**</sup>	3,35±1,0 <sup>*</sup>	<b>0,0016</b>
Fosfolípides	19,06±1,3	16,01±1,6 <sup>††***</sup>	18,01±1,8 <sup>*</sup>	<b>0,0001</b>
Triglicérides	3,65±0,7	2,83±0,7 <sup>*</sup>	3,17±0,55 <sup>*</sup>	<b>0,0084</b>

Dados expressos como média ± desvio padrão. Teste de múltiplas comparações por Student-Newman-Keuls. <sup>\*</sup>p<0,05 versus sedentário <sup>\*\*</sup>p<0,01 versus sedentário, <sup>\*\*\*</sup>p<0,001 versus sedentário, <sup>†</sup>p<0,05 versus via sonda, <sup>††</sup>p<0,001 versus via sonda.

Foram realizadas correlações entre as transferências de lípides, o tempo de imobilização e os parâmetros clínicos dos pacientes (Tabela 10). O tempo de imobilização correlacionou com o TG, mas não se correlacionou com a glicemia, com o perfil lipídico e com as transferências de lípides. O colesterol não HDL correlacionou com éster de colesterol, fosfolípides e TG. O LDL-C correlacionou com éster de colesterol e fosfolípides. O HDL-C correlacionou com éster de colesterol e fosfolípides e teve também forte correlação com colesterol livre. Os TG não se correlacionaram com as transferências de lípides. A apo A-I correlacionou com as transferências de TG e teve forte correlação com éster de colesterol, colesterol livre e fosfolípides, enquanto que a apo B correlacionou apenas com as transferências de éster de colesterol e fosfolípides. A concentração de LDL oxidada correlacionou com éster de colesterol, fosfolípides e TG. A CETP apresentou correlação negativa com as transferências de éster de colesterol e fosfolípides e a LCAT correlacionou com as transferências de fosfolípides, TG e apresentou forte correlação com a transferência de colesterol livre.

**Tabela 10 - Correlações entre as transferências de lípidos e os parâmetros clínicos dos pacientes acamados**

	<b>Éster de colesterol</b>	<b>Colesterol livre</b>	<b>Fosfolípidos</b>	<b>Triglicérides</b>	<b>Tempo acamado</b>
Glicemia (mg/dL)	0,003	0,167	0,004	0,133	0,568
Colesterol (mg/dL)					
Total	<b>0,683***</b>	<b>0,516*</b>	<b>0,686***</b>	<b>0,505*</b>	0,035
Não HDL	<b>0,531**</b>	0,342	<b>0,568**</b>	<b>0,415*</b>	0,007
LDL	<b>0,585**</b>	0,359	<b>0,563**</b>	0,380	0,086
HDL	<b>0,637**</b>	<b>0,657***</b>	<b>0,534**</b>	0,401	0,121
Triglicérides (mg/dL)	0,101	0,107	0,238	0,257	<b>0,193*</b>
Apolipoproteína(mg/dL)					
A-I	<b>0,787***</b>	<b>0,785***</b>	<b>0,694***</b>	<b>0,600**</b>	0,060
B	<b>0,523*</b>	0,303	<b>0,552**</b>	0,401	0,012
LDL oxidada (U/L)	<b>0,546**</b>	0,356	<b>0,545**</b>	<b>0,414*</b>	0,001
CETP (µg/mL)	<b>-0,420*</b>	-0,405	<b>-0,478*</b>	-0,226	0,053
LCAT (µg/mL)	0,290	<b>0,702***</b>	<b>0,605**</b>	<b>0,574**</b>	0,126
Tempo acamado	0,000	0,011	0,006	0,028	--

Valores expressos em  $r^2$ : coeficiente de correlação de Pearson. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ . LDL: lipoproteína de baixa densidade, HDL: lipoproteína de alta densidade, CETP: Proteína de transferência de éster de colesterol, LCAT: Lecitina colesterol aciltransferase.



## 5. DISCUSSÃO

Estudos avaliando o perfil e o metabolismo de lípidos em pacientes acamados por período prolongado são escassos; o que se observa na literatura são estudos para avaliar imobilidade física por curto período em pessoas submetidas a repouso no leito (YANAGIBORI et al., 1998; MAZZUCCO et al., 2010), ou indivíduos com LME (BAUMAN et al., 1999; LACLAUSTRA et al., 2015; DALLMEIJER; HOPMAN; van der WOUDE, 1997).

No presente estudo, a concentração de colesterol total foi menor nos pacientes acamados comparado aos indivíduos sedentários. Laclaustra et al. (2015) também encontraram concentração reduzida de colesterol total avaliando indivíduos com LME, sugerindo que a imobilização impacta nos níveis lipídicos. Porém, em outro estudo, 35 dias de inatividade física não alterou o colesterol total de 24 indivíduos masculinos saudáveis submetidos a estudo experimental de repouso no leito (MAZZUCO et al., 2010).

Apesar de estar bem estabelecido que os triglicerídeos e LDL-C elevados são indicadores do aumento do risco de eventos cardiovasculares e aterogênese (CARMENA; DURIEZ; FRUCHART, 2004; CULLEN, 2000), a literatura é controversa em pacientes imobilizados. Nossos resultados mostraram a concentração de LDL-C menor e o nível de triglicérides igual em pacientes acamados, comparado aos sedentários. Em indivíduos com algum grau de imobilização devido LME, tanto os triglicerídeos quanto LDL-C estavam diminuídos em comparação com sedentários saudáveis (BAUMAN et al., 1999). No entanto outros estudos não encontraram diferenças nesses parâmetros em indivíduos com LME comparado com controles saudáveis (GILBERT et al., 2013; EMMONS et al., 2014). Apesar dos níveis do LDL-C estarem diminuídos, a concentração da apo B não estava diferente entre os grupos; esse resultado pode ser entendido devido à presença da apo B em outras lipoproteínas (VLDL e IDL).

Ao contrário da apo B, a concentração de apo A-I, a principal apolipoproteína da HDL, foi menor no grupo acamados do que no grupo sedentário. Sugere-se que a inatividade física

decorrente da restrição dos pacientes pode explicar este resultado, uma vez que estudo avaliando maratonistas mostrou concentração maior de apo A-I nos indivíduos fisicamente ativos comparados a indivíduos sedentários (VAISBERG et al, 2012). Outro estudo avaliando os efeitos da imobilização decorrente de LME em 13 indivíduos ativos com tetraplegia mostrou concentração menor de apo A-I comparado a indivíduos com tetraplegia inativos (DALLMEIJER; HOPMAN; van der WOUDE, 1997).

Nos pacientes acamados, a concentração da LDL oxidada estava menor comparado ao grupo sedentário. Este resultado foi um pouco surpreendentemente, embora possa estar relacionado à diminuição da concentração de LDL e, principalmente à inatividade física do grupo acamado, já que estudos mostram níveis mais baixos de LDL oxidada em indivíduos que realizam exercícios aeróbicos (SCHJERVE et al., 2008; da SILVA, et al., 2011). Sabe-se que a atividade física aumenta o status antioxidante endógeno e a resistência da LDL à oxidação, além do LDL se renovar mais rapidamente no plasma desses indivíduos comparado a sedentários (ELOSUA et al., 2003; VINAGRE, C. et al., 2007).

O HDL-C é conhecido como fator de risco potencial, afetado positivamente pelo exercício físico. Assim sendo, sua diminuição está associada a manifestações de DAC, principalmente quando outros fatores de risco estão presentes como o sedentarismo (WANG; BRIGGS, 2004). No presente estudo, os níveis de HDL-C dos pacientes acamados estavam diminuídos comparado com indivíduos sedentários, corroborando os estudos que mostram que as limitações de mobilidade decorrente de LME podem levar a redução de HDL-C (OZGURTAS et al., 2003; BAUMAN et al., 1999; VIDAL et al., 2003). Do mesmo modo, Halverstadt et al. (2007) mostraram que exercício de resistência em intensidade moderada aumenta significativamente a concentração de colesterol nas subfrações HDL<sub>3</sub> e HDL<sub>2</sub>. Sondergaard et al. (2014) também encontraram HDL-C aumentado em indivíduos saudáveis durante a prática de exercício.

Vale a pena salientar que não só a concentração de HDL-C, mas também seus aspectos qualitativos e funcionais são relevantes para avaliação de suas ações anti-aterogênicas. Nós avaliamos a transferência de lipídes para HDL, um papel crucial da lipoproteína no transporte reverso de colesterol. As transferências de éster de colesterol, colesterol livre, fosfolípidos e TG

foram menores nos pacientes acamados, em comparação com indivíduos sedentários. Sugerindo que a menor concentração da HDL-C pode ter impactado na transferência de lípidos desfavorável.

Quando a transferência de lípidos foi normalizada pela concentração de HDL-C ou apo A-I, o principal marcador da HDL no plasma, as diferenças entre acamados e indivíduos sedentários não foram significativas e a transferência de fosfolípides se mostrou maior nos acamados do que nos sedentários. Portanto, neste estudo em particular, a HDL diminuída foi determinante nas transferências diminuídas de lípidos para a lipoproteína. No entanto, vale ressaltar que, em outras condições em que se avaliaram as transferências de lípidos, como em pacientes com DAC precoce (MARANHÃO et al., 2012), com síndrome metabólica (CASELLA-FILHO, et al., 2011), diabetes mellitus tipo 2 (OLIVEIRA et al., 2012) ou corredores de maratona (VAISBERG, et al., 2012) e outras condições comparando com os respectivos controles, as transferências não estavam relacionadas com o HDL -C ou com concentrações de apo A-I.

Sprandel (2013) mostrou que, em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 com ou sem DAC, mesmo com concentração de HDL e apo A-I semelhante, a taxa de transferência de éster de colesterol e colesterol livre foram menor em indivíduos diabéticos com DAC, comparado à pacientes com diabetes mellitus tipo 2 sem DAC. A autora sugere que a alteração no processo de transferência do grupo estudado não estava relacionada à concentração da lipoproteína aceptora e sim em um distúrbio no processo de transferência para HDL, o que não é possível ser confirmado em nosso estudo.

Alterações na transferência de éster de colesterol e TG podem contribuir para a instabilidade de HDL (MARANHÃO; FREITAS, 2014) e podem estar associadas à diminuição da concentração da lipoproteína como encontrado no presente estudo. Além disso, a diminuição da transferência de fosfolípides encontrada nos pacientes acamados possivelmente pode impactar na maturação da HDL, embora outros fatores não avaliados neste estudo pudessem estar envolvidos neste processo, como tamanho de HDL e ação da PLTP.

A redução da transferência de colesterol livre para a HDL pode levar à redução da esterificação do colesterol e afetar o transporte reverso do colesterol, pelo fato da HDL ser o principal sítio de esterificação do colesterol no plasma e ter papel fundamental em todo este processo (MARANHÃO; FREITAS, 2014). Além disso, as alterações na transferência de lipídes podem afetar a composição, tamanho e concentração de HDL, o que pode levar a uma HDL disfuncional (NORATA et al., 2006).

É complexo descobrir o mecanismo que leva à diminuição da transferência de colesterol livre da nanopartícula para a fração HDL nos pacientes acamados, mas a transferência menor deste lipíde também foi encontrada em outros estudos, tais como pacientes com transplante cardíaco (PUK et al., 2009), síndrome metabólica (CASELLA-FILHO, et al., 2011) e hipercolesterolemia familiar (MARTINEZ et al., 2013). Esses estudos sugerem que a fração de HDL nesses pacientes é menos eficiente na incorporação de colesterol livre para subsequente esterificação.

Um estudo sobre o impacto do exercício exaustivo sobre as transferências realizado em indivíduos treinados mostrou aumento das transferências de colesterol livre, fosfolípidos e TG comparado com indivíduos sedentários (VAISBERG et al., 2012). Assim, sugere-se que o exercício aeróbico impacta não só na concentração, mas também em outras propriedades da HDL e a imobilização no leito pode levar o indivíduo a diminuição da transferência de lipídes decorrente da inatividade física.

A transferência de lipídes é um processo facilitado pela CETP, que tem a capacidade de promover a troca de éster de colesterol e TG entre as lipoproteínas plasmáticas (TALL, 1995). No presente estudo, não houve diferença na concentração de CETP entre pacientes acamados e indivíduos sedentários mesmo com a diminuição na transferência dos quatro principais lipídes.

Tem sido descrito que a atividade da CETP é dependente de sua concentração e de interagir com as lipoproteínas (TALL, 1995), mas em condições normais, a quantidade de CETP provavelmente não é limitante na transferência de lipídes entre HDL e LDL, ao menos que sua atividade seja muito reduzida (BARTER, 2000).

A LCAT é uma enzima que desempenha um papel importante na esterificação do colesterol na HDL, é sintetizada principalmente no fígado e circula no plasma associada em maior proporção a HDL (OSSOLI; PAVANELLO; CALABRESI, 2016). Em nosso estudo, os níveis LCAT foram iguais em ambos os grupos. Estudos avaliando LCAT em pacientes acamados são escassos. Além disso, o papel da LCAT na aterosclerose é controverso, alguns autores consideram que o aumento dos níveis LCAT está associado à DAC, enquanto outros afirmam que a diminuição da atividade da enzima não está associada à doença (ROUSSET et al., 2007; OSSOLI; PAVANELLO; CALABRESI, 2016).

Comparado ao grupo sedentário, os pacientes acamados tiveram um IMC menor. Outros estudos mostram que indivíduos com restrição de mobilidade decorrente de LME apresentam IMC menor comparado a controles saudáveis (WANG, T. et al., 2007, BAUMAN et al., 1999). Qualquer condição que leve a imobilização está associada à diminuição de massa muscular e indivíduos com lesão de medula espinhal têm atrofia muscular abaixo do nível da lesão (BAUMAN et al., 1999; GEORGEY et al., 2014). Esta afirmação sugere que os indivíduos acamados possivelmente apresentavam diminuição de massa muscular e gordura corpórea, porém demais medidas antropométricas foi uma limitação do presente estudo devido à condição de mobilidade e restrição dos indivíduos no leito.

Para verificar se o tempo acamado influencia os parâmetros analisados, os pacientes foram divididos em um grupo de tempo acamado menor do que 150 dias e em outro grupo de tempo maior do que 150 dias no leito. O tempo de imobilização não influenciou na concentração dos lípides plasmáticos, apolipoproteínas, CETP E LCAT. Laclaustra et al. (2015) avaliaram 177 indivíduos com diferentes graus de redução de mobilidade decorrente de LME e não encontrou diferença relacionada aos lípides plasmáticos em relação ao tempo decorrido pós lesão, indicando que as mudanças nos níveis dos lípides ocorrem no primeiro ano após a lesão e depois permanecem estáveis. Emmons et al. (2014) também mostraram que os níveis da apo B e LDL-C não estavam alterados em sujeitos com lesão crônica por mais de 1 ano. Por outro lado, Dallmeijer; Hopma; van der Woude, (1997) mostraram que a concentração de apo B em indivíduos com LME estava diminuída durante os primeiros 2 anos após a lesão. No presente

estudo, quando o grupo acamado foi dividido de acordo com o tempo de imobilização também não foi observada diferença na concentração de apo B entre os três grupos.

Não há registros na literatura sobre o impacto do tempo acamado nas transferências de lípides. O presente estudo mostrou que em relação às transferências dos quatro lípides, o tempo acamado menor ou maior que 150 dias não influenciou, uma vez que não houve diferença entre os dois grupos. No entanto, manteve-se a diminuição das transferências de éster de colesterol, colesterol livre, TG e fosfolípides entre os pacientes acamados por período superior a 150 dias em relação aos indivíduos sedentários e diminuição apenas do éster de colesterol e fosfolípides entre o grupo acamado menor que 150 dias em relação aos sedentários. Sugere-se que o maior tempo de imobilização no leito diminui as transferências dos lípides plasmáticos com possível impacto no transporte reverso do colesterol.

Azevedo et al. (2011) estudaram a capacidade da HDL em receber os quatro lípides plasmáticos em indivíduos jovens ( $25\pm 5$  anos), de meia idade ( $42\pm 6$  anos) e em idosos ( $75\pm 8$  anos) com ou sem DAC, e verificaram que as transferências de éster de colesterol e fosfolípides foram maiores em idosos. Os autores sugerem que o envelhecimento pode ser um mecanismo protetor no grupo estudado contra o desenvolvimento de DAC. No presente estudo os pacientes acamados foram subdivididos em dois grupos de acordo com a idade dos pacientes (menor ou maior de 50 anos) e não foram observadas diferenças relacionadas às transferências, bem como sobre o perfil de lípides nos pacientes acamados.

Os pacientes acamados estavam internados e, portanto, com dieta acompanhada pelo Serviço de Nutrição do Hospital, com recebimento de dieta por sonda enteral ( $n=15$ ) ou dieta via oral ( $n=8$ ). Para avaliarmos os impactos da dieta no perfil de lípides e na transferência de lípides para a HDL, os pacientes foram divididos em dois grupos de acordo com a dieta recebida. Houve diminuição da concentração de Apo A-I e das transferências de éster do colesterol e fosfolípides do grupo que recebia dieta por sonda. Essas alterações podem ter impactado na redução da concentração da HDL-C e em seu metabolismo. A massa de CETP estava diminuída entre o grupo que recebia dieta por sonda em relação ao grupo que recebia dieta via oral; essa menor concentração da CETP pode diminuir a troca de éster de colesterol e TG entre a HDL e entre as

lipoproteínas ricas em apo B e influenciar no transporte reverso do colesterol, expondo os acamados a risco maior de DAC.

Em nosso estudo os pacientes acamados não apresentavam evidência clínica de infecção aguda, porém estudos avaliando pessoas com redução da mobilidade decorrente de LME mostram elevação das citocinas pró-inflamatória, independente da duração da lesão e mesmo sem complicações médicas secundárias. (DAVIES; HAYES; DEKABAN, 2007; WANG et al., 2007; ALLISON; DITOR, 2015),

Em nosso estudo foi realizada a análise do perfil inflamatório e verificou-se que as interleucinas IL1- $\beta$  e IL-6 estavam aumentadas em comparação aos indivíduos sedentários, porém o TNF- $\alpha$  estava igual entre os grupos. Estudos avaliando pessoas com redução da mobilidade decorrente de LME mostram elevação das citocinas pro-inflamatória, independente da duração da lesão e mesmo sem complicações médicas secundárias. (DAVIES; HAYES; DEKABAN, 2007; WANG et al., 2007; ALLISON; DITOR, 2015). Davies; Hayes e Dekaban (2007) encontraram aumento das citocinas IL-6 e TNF- $\alpha$  em 56 indivíduos com imobilização por LME comparado a um grupo controle saudável. Os autores também relataram que ao menos uma das citocinas pro-inflamatórias estava aumentada nesses indivíduos, mas que não foi claro se os níveis séricos elevados de citocinas estavam contribuindo para complicações inflamatórias, ou se eram consequência de infecção associada à resposta inflamatória. Em nosso estudo, 15 pacientes que possuíam lesão de pele tiveram aumento de IL-6 comparado aos pacientes sem lesão (n=8), porém não foi observada diferença significativa no perfil lipídico entre esses pacientes. Níveis mais elevados de IL-6 também foram encontrados em indivíduos com LME e com lesão de pele comparada aos assintomáticos para outras complicações médicas, mas os autores não avaliaram o perfil de lípidos (DAVIES; HAYES; DEKABAN, 2007).

Estudos de correlação sobre perfil lipídico e inatividade física são escassos na literatura. No presente estudo, HDL-C correlacionou positivamente com a transferência de éster de colesterol, fosfolípidos e colesterol livre; a concentração da apo A-I também se correlacionou positivamente com a transferência dos quatro lípidos da HDL, estando de acordo com dados publicados anteriormente (LO PRETE, et al., 2009). Sprandel, et al (2015) também encontraram

correlação positiva das transferências dos quatro lípidos com a HDL-C e apo A-I em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 e DAC.

### **Limitações do estudo**

Uma das limitações do presente estudo é a recrutamento de pacientes com menor tempo acamado. Seria interessante avaliar pacientes com menor período de imobilização, pois poderiam estar com um quadro agudo de alterações metabólicas. Ainda, seria interessante ter mais pacientes com diferentes tempos de restrição ao leito para se avaliar o tempo de imobilização na função da HDL.

Outra limitação é a ausência das medidas antropométricas. Não é possível a coleta desses dados devido à condição de restrição inerente a essa população, uma vez que a aferição das referidas medidas necessita de posicionamento ortostático.

A ausência do recordatório alimentar dos indivíduos sedentários e maiores detalhes sobre a composição corpórea dos grupos também é um limitante, para o melhor entendimento dos efeitos no perfil lipídico, no entanto não fazia parte do escopo do presente estudo.



## 6. CONCLUSÃO

Apesar da menor concentração do LDL-C e dos triglicérides não serem diferentes dos sedentários, o status de HDL mostrou-se piorado nos acamados.

Concluimos que a condição de sedentarismo extremo dos pacientes acamados afetou a concentração do HDL-C e da apo A-I e as transferências lipídicas para HDL. É possível inferir que mesmo o baixo nível de atividade física exercida no dia-a-dia dos indivíduos sedentários pode ser determinante na concentração da HDL e no seu metabolismo.

Devido às importantes funções anti-aterogênicas da HDL, essas alterações metabólicas devem ser uma preocupação adicional na assistência aos pacientes acamados em cuidados prolongados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLISON, D.J; DITOR, D.S. Immune dysfunction and chronic inflammation following spinal cord injury. **Spinal Cord**. v.53, n.1, p.14-18, Jan. 2015.

AZEVEDO, C.H.M. et al. Simultaneous transfer of cholesterol, triglycerides, and phospholipids to high-density lipoprotein in aging subjects with or without coronary artery disease. **Clinics**. Sao Paulo, v. 66, n.9, p.1543-1548, 2011.

BAUMAN, W.A. Is immobilization associated with an abnormal lipoprotein profile? Observations from a diverse cohort. **Spinal Cord**. v.37, n.7, p. 485-493, Jul. 1999.

BAUMAN, W.A; SPUNGEN, A.M. Coronary heart disease in individuals with spinal cord injury: assessment of risk factors. **Spinal Cord**. v.46, n.7, p. 466-476, Jul. 2008.

BARTER, P. CETP an arteriosclerosis. **Arterioscler Thromb Vasc Bioloy**. v. 20, p. 2029-2031 Jul. 2000.

BARTER, P. HDL: a recipe for longevity. **Atheroscler Supplements**. v.5, n.2, p.25-31, May. 2004.

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

BROOKS, N.E. Influence of exercise on the metabolic profile caused by 28 days of bed rest with energy deficit and amino acid supplementation in healthy men. **International Journal of Medical Sciences**. v.11, n.12, p. 1248-1257, Sep. 2014.

CARMENA, R; DURIEZ, P; FRUCHART, J.C. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. **Circulation**. v.109, n.23, p.III2-7, Jun. 2004. Suppl 1.

CASELLA-FILHO, A. et al. Effect of exercise training on plasma levels and functional properties of high-density lipoprotein cholesterol in the metabolic syndrome. **American Journal of Cardiology**. v.107, n.8, p.1168-1172, Apr. 2011.

CULLEN, P. Evidence that triglycerides are an independent coronary heart disease risk factor. **American Journal of Cardiology**. v.86 n.9, p. 943-949, Nov. 2000.

DALLMEIJER, A.J; HOPMAN, M.T. van der WOUDE, L.H. Lipid, lipoprotein, and apolipoprotein profiles in active and sedentary men with tetraplegia. **Archives Physical Medicine and Rehabilitation**. v.78, n.11, p. 1173-1176, Nov. 1997.

DAMINELLI, E.N. et al. Alterations in lipid transfer to high-density lipoprotein (HDL) and activity of paraoxonase-1 in HIV+ patients. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v.50, n.4, p.223-227, Aug. 2008.

da SILVA, J.L. et al. Resistance training changes LDL metabolism in normolipidemic subjects: A study with a nanoemulsion mimetic of LDL. **Atherosclerosis**. v.219, n.2, p.532-537, Dec. 2011.

DAVIES, A.L; HAYES, K.C; DEKABAN, G.A. Clinical Correlates of Elevated Serum Concentrations of Cytokines and Autoantibodies in Patients With Spinal Cord Injury. **Archives Physical Medicine and Rehabilitation**. v.88, n.11, p.1384-1393, Nov. 2007.

DITTMER, D.K; TEASEL, R. Complications of immobilization and bed rest. Part 1: Musculoskeletal and cardiovascular complications. **Canadian Family Physician**. v. 39, p.1428-32, 1435-7, Jun. 1993.

ELOSUA, R. et al. Response of oxidative stress biomarkers to a 16 week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy Young men and woman. **Atherosclerosis**.v.167, n.67, p.327-324, Apr. 2003.

EMMONS, R.R. et al. The relationship between the postprandial lipemic response and lipid composition in persons with spinal cord injury. **Journal of Spinal Cord Medicine**. v. 37, n.6, p. 765-673, Nov. 2014.

FEIG, J.E; SHAMIR, R.; FISHER, E.A. Atheroprotective effects of HDL: beyond reverse cholesterol transport. **Current Drug Targets**. v.9 n.3, p.196-203, Mar. 2008.

FEITOSA-FILHO, G.S. et al. Lipid Transfer to HDL in Type-2 Diabetic Patients: Associations with Microalbuminuria, Statin, and Insulin. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v.92, n.2, p.94-106, Fev. 2009.

FERRETTI, G. et al. Structural modifications of HDL and functional consequences. **Atherosclerosis**. v.184, n.1, p.1-7. Jan. 2006.

GEORGEY, A.S. et al. Effects of spinal cord injury on body composition and metabolic profile - part I. **Journal of Spinal Cord Medicine**. v, 37, n.6, p. 693-702, Nov. 2014.

GILBERT, O. et al. Serum lipid concentrations among persons with spinal cord injury - a systematic review and meta-analysis of the literature. **Atherosclerosis**. v.212, n.2, p.305-312, Feb. 2014.

GINSBURG, G.S; SMALL, D.M; ATKINSON, D. Microemulsions of phospholipids and cholesterol esters. Protein-free models of low density lipoprotein. **Journal of Biological Chemistry**. v.257, n.14 p.8216-8227, Jul.1982.

HALVERSTDT, A. et al. Endurance exercise training raises high-density lipoprotein cholesterol and lowers small low-density lipoprotein and very low-density lipoprotein independent of body fat phenotypes in older men and women. **Metabolism**. v, 56, n.4, p. 444-450, Apr. 2007.

HUSSAIN, A. Framingham Risk Scores for coronary heart disease in a cohort of Saudi Arabian men and women with spinal cord injury. **Acta Neurologica Belgica**. v, 116, n.2, p. 179-184, Jun. 2016.

LACLAUSTRA, M. et al. Serum Lipid Profile in Subjects with Traumatic Spinal Cord Injury. **PLoS One**. v.10, n.2, Feb. 2015.

LAMARCHE, B.; RASHID, S.; LEWIS, G.F. HDL metabolism in hypertriglyceridemic states: an overview. **Clinica Chimica Acta**. v.286, n.1-2, p.145-161, Aug. 1999.

LAVERDY, et al. Effects of glycemic control upon serum lipid transfer to HDL in patients with type 2 diabetes mellitus: novel findings in unesterified cholesterol status. **Experimental and Clinical Endocrinology Diabetes**. v.123, n.4, p. 232-239, Apr. 2015.

LO PRETE, A.C. et al. In vitro simultaneous transfer of lipids to HDL in coronary artery disease and in statin treatment. **Lipids**. v.44, n.10, p. 917-924, Oct. 2009.

MARANHÃO, R.C. et al. Metabolic behavior in rats of a nonprotein microemulsion resembling low-density lipoprotein. **Lipids**. v.28, n.8, p.691-696, Aug. 1993.

MARANHÃO, R.C. et al. Lipid transfers to HDL are predictors of precocious clinical coronary heart disease **Clinica Chimica Acta**. v.413, n.3-4, p. 502-505, Fev. 2012.

MARANHÃO, R.C; FREITAS, F.R. HDL Metabolism and Atheroprotection: Predictive Value of lipid Transfers. **Advances in Clinical Chemistry**. v.65, p.1-41, 2014.

MARTINEZ, L.R. et al. Transfer of lipids to high-density lipoprotein (HDL) is altered in patients with familial hypercholesterolemia. **Metabolism**. v.62, n.8, p.1061-1064, Aug. 2013.

MAZZUCCO, S. et al. Prolonged Inactivity Up-Regulates Cholesteryl Ester Transfer Protein Independently of Body Fat Changes in Humans. **Journal of Clinical Endocrinology Metabolism**. v. 95, n. 5, p. 2508-2512, May. 2010.

MEYERS, C.D; KASHYAP, M.L. Pharmacologic elevation of high-density lipoproteins: recent insights on mechanism of action and atherosclerosis protection. **Current Opinion in Cardiology**. v.19, n.4, p.366-373, Jul. 2004.

MYERS, J; LEE, M; KIRATLI, J. Cardiovascular disease in spinal cord injury: an overview of prevalence, risk, evaluation, and management. **American Journal Physical Medicine and Rehabilitation**. v.86, n.2, p. 142-152, Feb. 2007.

NELSON, L.D; COX, M.M. **Lehninger: princípios de bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006, p.815.

NORATA, G.D.; PIRILLO, A; CATAPANO, A.L.; Modified HDL: biological and physiopathological consequences. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**. v.16, n.5, p.371-386, Jul. 2006.

OLIVEIRA, C.P. et al. Removal from the plasma of the free and esterified forms of cholesterol and transfer of lipids to HDL in type 2 diabetes mellitus patients. **Lipids in Health Diseases**. v. 11, n. 65, Jun. 2012.

OSSOLI, A; PAVANELLO, C; CALABRESI, L. High-Density Lipoprotein, Lecithin: Cholesterol Acyltransferase, and Atherosclerosis. **Endocrinology and Metabolism. (Seoul)**, v.31, n.2, p. 223-229, Jun. 2016.

OZGURTAS, T. et al. Do spinal cord injuries adversely affect serum lipoprotein profiles? **Military Medicine**. v.168, n.7, p. 545-547, Jul. 2003.

PUK, C.G. et al. Transfer of cholesterol and other lipids from a lipid nanoemulsion to high-density lipoprotein in heart transplant patients. **Journal of Heart and Lung Transplantation**. v. 28, n.10, p. 1075-1080, Oct. 2009.

RASHID, S. et al. Mechanisms of HDL lowering in insulin resistant, hypertriglyceridemic states: the combined effect of HDL triglyceride enrichment and elevated hepatic lipase activity. **Clinical Biochemistry**. v.36, n.6, p.421-429, Sep. 2003.

ROUSSET, X. et al. Lecithin cholesterol acyltransferase: an anti- or pro-atherogenic factor? **Current Atherosclerosis Reports**. v.13, n.3, p.249-56, Jun. 2011.

SÁNCHEZ-QUESADA, J.L. et al. LDL from aerobically-trained subjects shows higher resistance to oxidative modification than LDL from sedentary subjects. **Atherosclerosis**. v.132, n.2, p.207-213, Jul. 1997.

SCHJERVE, I.E. et al. Both aerobic endurance and strength training programmes improve cardiovascular health in obese adults. **Clinical Science**. Lond, v.115, n.9, p.283-293, Nov. 2008.

SIGAL, G.A. et al. Lipid metabolism in subclinical hypothyroidism: plasma kinetics of triglyceride-rich lipoproteins and lipid transfers to high-density lipoprotein before and after levothyroxine treatment. **Thyroid**. v.21, n.4, p.347-353, Apr. 2011.

SILVA, V.M. et al. Plasma lipids, lipoprotein metabolism and HDL lipid transfers are equally altered in metabolic syndrome and in type 2 diabetes. **Lipids**. v.49, n.7, p.677-684, Jul. 2014.

SPRANDEL, M.C.O. **Efeito do metabolismo e função das lipoproteínas de alta densidade (HDL) em pacientes diabéticos tipo 2 com e sem Doença Coronária Obstrutiva**. 2013. 66f. tese (Doutorado). Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo: 2013.

SPRANDEL, M.C. et al. Alterations in lipid transfer to HDL associated with the presence of coronary artery disease in patients with type 2 diabetes mellitus. **Cardiovascular Diabetology**. v.14, n.14, p.107, Aug. 2015.

TALL, A. Plasma lipid transfer proteins. **Annual Review of Biochemistry**. v.64, p.235-257. **1995**.

VAISBERG, M. et al. Lipid Transfer to HDL is Higher in Marathon Runners than in Sedentary Subjects, but is Acutely Inhibited During the Run. **Lipids**. v.47, n.7, p.679-686, Jul. 2012.

VIDAL, et al. Long-term evolution of blood lipid profiles and glycemc levels in patients after spinal cord injury. **Spinal Cord**. v. 41, n.3, p.178-181, Mar. 2003.

VINAGRE, C.G. et al. Enhanced removal from the plasma of LDL-like nanoemulsion cholesteryl ester in trained men compared with sedentary healthy men. **Journal of Applied Physiology**. v.103, n.4, p. 1166-1171, Oct. 2007.

VINAGRE, J.C. et al. Metabolism of triglyceride-rich lipoproteins and transfer of lipids to high-density lipoproteins (HDL) in vegan and omnivore subjects. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Disease**. v.23, n.1, p.61-67. Jan. 2013.

WANG, M; BRIGGS, M,R. HDL: the metabolism, function and therapeutic importance.



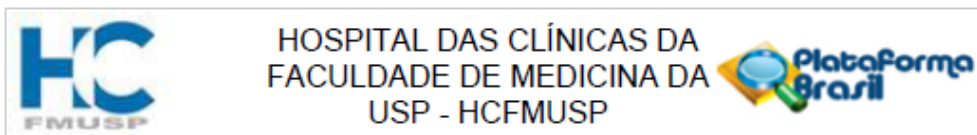
**Chemical Reviews.** v.104, n.1, p.119-137, Jan. 2004.

WANG, T.D. et al. Circulating levels of markers of inflammation and endothelial activation are increased in men with chronic spinal cord injury. **Journal of Formosan Medical Association.** v.106, n.11, p.919-928, Nov. 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. International perspectives on spinal cord injury. Geneva: WHO; 2013

YANAGIBORI, R. et al. Effect of 20 day's bed rest on the reverse cholesterol transport system in healthy young subjects. **Journal of Internal Medicine.** v.243, n.4, p.307-312, Apr. 1998.

## ANEXO A – Parecer do comitê de ética e pesquisa



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Perfil lipídico plasmático e transferência de lipídeos para lipoproteínas de alta densidade (HDL) em pacientes restritos ao leito em cuidados prolongados

**Pesquisador:** Raul Cavalcante Maranhão

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 34823314.7.0000.0068

**Instituição Proponente:** Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

**Patrocinador Principal:** CONS NAC DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLOGICO  
FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 795.026

**Data da Relatoria:** 17/09/2014

#### Apresentação do Projeto:

**Determinações Bioquímicas Séricas** A realização do perfil lipídico será realizada no Laboratório de Metabolismo de Lipídeos do InCor HC-FMUSP. As

amostras de sangue serão obtidas dos pacientes após um período de jejum de 12 horas, por punção de veia periférica em tubo contendo

ethylenediamine tetracetic acid (EDTA).

#### Objetivo da Pesquisa:

Investigar o perfil lipídico e a transferência para a HDL dos quatro principais lipídeos entre outros parâmetros bioquímicos relacionados à pacientes

em imobilização prolongada.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

**Riscos:**

Apenas um pequeno desconforto será sentido na hora da punção da veia do paciente e o risco de complicações é mínimo quanto à realização deste procedimento (igual a coleta de um exame de rotina).

**Endereço:** Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar  
**Bairro:** Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010  
**UF:** SP **Município:** SAO PAULO  
**Telefone:** (11)2681-7585 **Fax:** (11)2681-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 795.026

**Benefícios:**

O Paciente pode ser beneficiado por conhecer mais profundamente o estado de controle de seus lípidos no sangue que são fatores muito importantes na prevenção de complicações de doenças cardíacas e cérebro vascular.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa com dosagem sérica de lípidos, sem complexidade para participação dos sujeitos.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os termos de apresentação obrigatórios estão bem descritos.

**Recomendações:**

Não se aplica.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Estudo aprovado sem restrições.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar  
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010  
UF: SP Município: SAO PAULO  
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA  
FACULDADE DE MEDICINA DA  
USP - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 795.026

SAO PAULO, 17 de Setembro de 2014

---

Assinado por:  
ALFREDO JOSE MANSUR  
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar  
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010  
UF: SP Município: SAO PAULO  
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Página 03 de 03

## ANEXO B – Ficha do aluno

**Janus** - Sistema Administrativo da Pós-Graduação



**Universidade de São Paulo**  
**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**

**Documento sem validade oficial**

### FICHA DO ALUNO

---

9136 - 6862924/1 - Wilson Pascoalino Camargo de Oliveira

**Email:** wilson.camargo@usp.br  
**Data de Nascimento:** 10/04/1977  
**Cédula de Identidade:** RG - 28.622.117-2 - SP  
**Local de Nascimento:** Estado de São Paulo  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Graduação:** Bacharel em Enfermagem - Universidade Cruzeiro do Sul - São Paulo - Brasil - 2007

---

**Curso:** Mestrado  
**Programa:** Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia)  
**Área:** Análises Clínicas  
**Data de Matrícula:** 15/07/2014  
**Início da Contagem de Prazo:** 15/07/2014  
**Data Limite para o Depósito:** 16/01/2017  
**Orientador:** Prof(a). Dr(a). Raul Cavalcante Maranhao - 15/07/2014 até o presente. Email: ramarans@usp.br  
**Proficiência em Línguas:** Inglês, Aprovado em 15/07/2014  
**Data de Aprovação no Exame de Qualificação:** Aprovado em 28/08/2015  
**Data do Depósito do Trabalho:**  
**Título do Trabalho:**  
**Data Máxima para Aprovação da Banca:**  
**Data de Aprovação da Banca:**  
**Data Máxima para Defesa:**  
**Data da Defesa:**  
**Resultado da Defesa:**  
**Histórico de Ocorrências:** Primeira Matrícula em 15/07/2014

---

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 6542 em vigor a partir de 20/04/2013).

**Última ocorrência:** Matrícula de Acompanhamento em 18/07/2016

---



Universidade de São Paulo  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Documento sem validade oficial  
FICHA DO ALUNO

9136 - 6862924/1 - Wilson Pascoalino Camargo de Oliveira

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBC5757-6/1	Tópicos em Análises Clínicas II	05/08/2014	17/11/2014	15	1	100	A	N	Concluída
ENS5919-1/2	Métodos de Pesquisa (Escola de Enfermagem - Universidade de São Paulo)	07/08/2014	08/10/2014	90	6	100	A	N	Concluída
ODS5884-1/1	Práticas de Ensino na Atenção à Saúde (Curso Interunidades: Formação Interdisciplinar em Saúde - Universidade de São Paulo)	20/08/2014	02/12/2014	120	8	100	A	N	Concluída
ENC5883-4/1	Prática Pedagógica no Ensino Superior (Escola de Enfermagem - Universidade de São Paulo)	27/02/2015	08/05/2015	90	6	100	A	N	Concluída
FBC5793-12/2	Tópicos em Análises Clínicas I	03/03/2015	16/06/2015	15	1	100	A	N	Concluída
ODS5894-1/2	Prevenção de Agravos, Promoção da Saúde e Redução de Vulnerabilidade: Evolução Histórica dos Conceitos e Oportunidades de Práticas Inter-Profissionais (Curso Interunidades: Formação Interdisciplinar em Saúde - Universidade de São Paulo)	04/03/2015	14/04/2015	60	4	100	B	N	Concluída
FBT5700-3/2	Preparo de Artigos Científicos na Área de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica	08/05/2015	09/07/2015	90	0	-	-	N	Pré-matrícula indeferida

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação	
Disciplinas:	0	25	26
Estágios:			
Total:	0	25	26

Créditos Atribuídos à Dissertação: 71

Conceito a partir de 02/01/1997:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência. Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 18/07/2016

Impresso em: 06/12/2016 14:16:53