

Pedro Gabriel Senger Braga

**Efeito do exercício físico sobre o metabolismo e função da HDL em  
indivíduos de diferentes faixas etárias**

Tese apresentada à Faculdade de  
Medicina da Universidade de São Paulo  
para obtenção do título de Doutor em  
Ciências

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Raul Cavalcante  
Maranhão

São Paulo

2022

Pedro Gabriel Senger Braga

**Efeito do exercício físico sobre o metabolismo e função da HDL em  
indivíduos de diferentes faixas etárias**

Tese apresentada à Faculdade de  
Medicina da Universidade de São Paulo  
para obtenção do título de Doutor em  
Ciências

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Raul Cavalcante  
Maranhão

São Paulo

2022

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

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Braga, Pedro Gabriel Senger  
Efeito do exercício físico sobre o metabolismo e  
função da HDL em indivíduos de diferentes faixas  
etárias / Pedro Gabriel Senger Braga. -- São Paulo,  
2022.

Tese (doutorado) -- Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo.  
Programa de Cardiologia.  
Orientador: Raul Cavalcante Maranhão.

Descritores: 1.Exercício físico 2.Envelhecimento  
3.Adulto 4.Idoso 5.Metabolismo dos lipídeos  
6.Colesterol 7.HDL-colesterol

USP/FM/DBD-296/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

## **Dedicatória**

Dedico este trabalho a minha mãe, Roberta Senger do Amaral, que sempre acreditou em mim e nunca mediu esforços para me proporcionar qualquer auxílio e motivação no que diz respeito a minha formação.

Dedico também a minha mulher, minha companheira, Mariana Yole Souza Senger, por todo apoio, incentivo e pelas longas conversas. Inclusive as inúmeras vezes que teve que ouvir as minhas apresentações.

Dedico ao meu pai, Alcides Moreli Braga, meus irmãos, Nicolas Senger e Rafael Senger, além da minha avó, Brigida Maria Senger, que sempre me apoiaram e se interessaram por me acompanhar em cada um dos meus passos.

## **Agradecimentos**

Ao Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão por me receber no Laboratório de Metabolismo e Lípidos e me conceder essa oportunidade ímpar. Agradeço pelos ensinamentos e pela orientação.

A Dra. Thauany Martins Tavoni que me acompanhou e acreditou neste trabalho desde o começo, tendo fundamental participação.

As amigas Dalila, Roberta, Natália e Camila que me receberam como estagiário e me proporcionaram grandes ensinamentos, pelas conversas nos almoços e cafés, vocês fizeram a diferença neste processo. Também agradeço pelo companheirismo do Maurício, Aline e Fabiana.

Aos meus sogros, Ailton e Waldirene, meu cunhado Erick e sua esposa Carol, e aos meus primos Bruno e Amanda pelos momentos de incentivo, apoio e descontração.

À família Vassoler Amaral, meus tios Leon, Pipitty, e minhas primas Amanda e Mariana, que mesmo a distância me acompanharam a cada passo.

À toda equipe do Laboratório de Metabolismo e Lípidos pela recepção, acolhimento e contribuição.

Aos amigos e colegas de pós-graduação e da Unidade de Reabilitação e Fisiologia do Exercício, Francis, Guilherme, Bruno Durante, Marcelo, a Dra. Maria Janieire, Dra. Fabiana Hodas, Dra. Patrícia Oliveira, Dr. Marcel que além de promoverem grandes encontros, me ensinaram muito compartilhando seus conhecimentos. Além disso, devo muitos agradecimentos as funcionárias da secretaria, em especial, a Sandra.

Agradeço ao Professor Doutor Anderson Fonseca Aoki, que me acompanhou desde a graduação e hoje é um grande parceiro.

Aos Professores Carlos Eduardo Negrão, André Luis Lacerda Bachi, Mauro Vaisberg e Professora Gislene que fizeram deste projeto possível e virar um estudo.

A Profa. Dra. Nágila Damasceno e a Marlene Aldin pelo suporte e enriquecimento nos métodos deste trabalho.

Aos funcionários da pós-graduação, Neusa, Valdecira, Mônica e Sidnei pela assistência, em especial a Luana, que sempre me deu todo suporte.

A Profa. Dra. Ludhmila Hajjar, uma exímia professora que sempre encoraja e acredita nos alunos.

Aos Drs. Raul Dias, Fabiana Rached e Patrícia Brum pelos ensinamentos e pela participação na minha banca de qualificação. Devo o maior dos agradecimentos por enriquecerem na discussão deste trabalho.

Agradeço à Professora Cláudia Forjaz da Escola de Educação Física e Esporte da USP pelos convites para participar das disciplinas. Estes momentos foram indispensáveis.

Ao Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, este lugar inspirador e seus docentes, pela oportunidade de conviver e de participar dos momentos de aprendizado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro.

Aos voluntários deste estudo, sem eles, nada disso teria sido possível.

“O prazer no trabalho aperfeiçoa a obra”

Aristóteles

## **Normatização adotada**

Esta tese está de acordo com as normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: Diretrizes para apresentação de Dissertações e Teses da USP. Parte I (ABNT)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro, Ana Paula Calabrez, Giselle Adornato de Aguiar, Maria Cristina Cavarette Dziabas, Maria Aparecida Laet, Maria Marta Nascimento. 4ª ed. São Paulo: Agência USP de Gestão da Informação Acadêmica. 2020.



## Lista de abreviaturas

ABCA1	ATP-binding cassette transporter A1
ABCG1	ATP-binding cassette transporter G1
Apo	Apolipoproteína
AVE	Acidente Vascular Encefálico
CA	Circunferência abdominal
CE	Colesterol Esterificado
CETP	Proteína de Transferência de Colesterol Esterificado
CL	Colesterol Livre
CO <sub>2</sub>	Gás carbônico
CQ	Circunferência do Quadril
DAC	Doença Arterial Coronariana
DAP	Doença Arterial Periférica
DCV	Doença Cardiovascular
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
Id-Atv	Idoso Ativo
Id-Inat	Idoso Inativo
IDL	Lipoproteína de Densidade Intermediária
IMC	Índice de Massa Corpórea
IPAQ	International Physical Activity Questionnaire
Jo-Atv	Jovem Ativo
Jo-Inat	Jovem Inativo
KBr	Brometo de potássio
LCAT	Lecitina-Colesterol Aciltransferase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MET	Equivalente Metabólico
O <sub>2</sub>	Oxigênio
OUES	Eficiência de absorção de oxigênio
PLTP	Proteína de transferência de fosfolípidos
PON1	Paraoxonase 1
SR-BI	Scavenger Receptor B-I
TG	Triglicérides
TRC	Transporte Reverso do Colesterol
VE	Ventilação
VO <sub>2</sub>	Consumo de oxigênio

## Lista de figuras

Figura 1	Gráfico obtido na análise da capacidade antioxidante da HDL.....	32
Figura 2	Imagem obtida na quantificação das subfrações da HDL.....	34
Figura 3	Fluxograma de participantes.....	36
Figura 4	Distribuição das subfrações de HDL dos grupos estudados.....	44

## Lista de tabelas

Tabela 1	Sexo, idade e dados antropométricos dos grupos estudados.....	37
Tabela 2	Teste ergoespirométrico dos grupos estudados.....	39
Tabela 3	Perfil lipídico e de apolipoproteínas dos grupos estudados....	41
Tabela 4	Características estruturais, funcionas e metabólicas da HDL dos grupos estudados.....	43
Tabela 5	Atividade da paraoxonase 1 e atividade antioxidante da HDL dos grupos estudados.....	43
Tabela 6	Correlação com os dados agrupados da amostra estudada...	46

## Sumário

	<b>Lista de abreviaturas</b>	
	<b>Lista de figuras</b>	
	<b>Lista de tabelas</b>	
	<b>Resumo</b>	
	<b>Abstract</b>	
<b>1.</b>	<b>Introdução</b> .....	17
<b>2.</b>	<b>Objetivo</b> .....	25
<b>3.</b>	<b>Material e Métodos</b> .....	26
	3.1 Casuística.....	26
	3.2 Determinações das características antropométricas.....	27
	3.3 Determinação da capacidade cardiorrespiratória durante o exercício progressivo máximo.....	28
	3.4 Determinações bioquímicas séricas.....	29
	3.5 Determinação do diâmetro da partícula de HDL.....	29
	3.6 Determinação da atividade da paraoxonase 1.....	30
	3.7 Capacidade antioxidante da HDL.....	31
	3.8 Ensaio de transferência de colesterol livre e esterificado de uma nanopartícula lipídica artificial para HDL.....	32
	3.9 Determinação da concentração de CETP e de LCAT.....	33
	3.10 Quantificação das subfrações da HDL.....	34
	3.11 Cálculo do tamanho da amostra.....	35
	3.12 Análise estatística.....	35
<b>4.</b>	<b>Resultados</b> .....	36
<b>5.</b>	<b>Discussão</b> .....	47
<b>6.</b>	<b>Conclusão</b> .....	51
<b>7.</b>	<b>Referências bibliográficas</b> .....	52

## Resumo

Braga PGS. Efeito do exercício físico sobre o metabolismo e função da HDL em indivíduos de diferentes faixas etárias [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 2022.

**Introdução:** A doença arterial coronária (DAC) é a principal causa de mortalidade no mundo, acometendo predominantemente os idosos. O controle dos fatores de risco é de importante para evitar as manifestações clínicas da doença. A prática do exercício físico é uma das principais medidas para prevenir a aterosclerose, proporcionando, entre outros benefícios, o aumento da lipoproteína de alta densidade (HDL). O impacto do exercício sobre aspectos metabólicos e funcionais da HDL que proporcionam a ação anti-aterogênica dessa lipoproteína tem sido pouco explorado em indivíduos idosos. **Objetivo:** Investigar em idosos, comparativamente a indivíduos jovens, se a prática de exercício físico pode alterar parâmetros relacionados ao metabolismo e função da HDL, como a transferência de colesterol, subfrações da HDL, atividade da paraoxonase 1 (PON1), atividade antioxidante da HDL e outras proteínas envolvidas nesse metabolismo. **Métodos:** Foram selecionados para o estudo 111 voluntários de ambos os sexos, jovens (20-35 anos) e idosos (>60 anos). Àqueles que estavam praticando exercício físico há pelo menos um ano, formaram dois grupos: jovens ativos (Jo-Atv, n=40) e idosos ativos (Id-Atv, n=25). Àqueles que reportaram não praticar nenhuma rotina de exercício físico há pelo menos um ano formaram dois outros grupos: jovem inativo (Jo-Inat, n=25) e idoso inativo (Id-Inat, n=21). Além dos hábitos referentes à prática de exercício serem reportados pelos indivíduos e documentados pelo International Physical Activity Questionnaire (IPAQ), todos foram submetidos ao teste ergoespirométrico para obtenção do consumo de oxigênio de pico ( $VO_{2pico}$ ). Foi feita a coleta de sangue em jejum para determinação do perfil lipídico e de apolipoproteínas (apo), diâmetro da HDL, atividade da PON1, concentração da proteína de transferência de colesterol esterificado (CETP) e da lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT) e a determinação das subfrações de HDL. O ensaio de transferência de colesterol esterificado (CE) e colesterol livre (CL) para a HDL foi realizado por meio da incubação do plasma com uma nanopartícula artificial doadora de CE e CL radioativos. Após a precipitação química, foi feita a

contagem de radioatividade. **Resultados:** O  $VO_2$ pico e o HDL-C foram maiores nos Id-Atv e nos Jo-Atv do que nos Id-Inat e Jo-Inat, respectivamente. A apo A-I foi maior nos Jo-Atv em comparação aos Jo-Inat, entretanto, não houve diferença de apo A-I entre os Id-Atv e Id-Inat. As transferências de CL para a HDL foram maiores nos Id-Atv do que nos Id-Inat, e maior nos Jo-Atv do que nos Jo-Inat. Entretanto, as transferências de CE para a HDL foram maiores apenas nos Jo-Atv em comparação aos Jo-Inat. As subfrações de HDL intermediárias foram maiores nos Id-Atv do que nos Id-Inat, e as subfrações grandes foram maiores nos Jo-Atv do que nos Jo-Inat. Não houve diferenças nas subfrações pequenas entre os grupos. As concentrações de CETP e LCAT, o diâmetro da HDL, a atividade da PON1 e a atividade anti-oxidante da HDL foram semelhantes entre os grupos Id-Atv e Id-Inat, e entre Jo-Atv e Jo-Inat. Não houve diferença no HDL-C, na apo A-I, nas subfrações de HDL e nas transferências de CE e CL para a HDL entre os grupos Id-Atv e os Jo-Atv. No tocante das lipoproteínas que contém apo B, não houve influência do exercício físico. **Conclusão:** Idosos que praticam exercício físico tem parâmetros relacionados a HDL melhor em comparação aos não praticantes. Esse resultado se replica para os grupos jovens. Além disso, apesar de terem o  $VO_2$ pico diminuído, os indivíduos idosos que praticam exercício apresentaram parâmetros do metabolismo da HDL semelhantes aos dos jovens que praticam exercício, o que reforça a importância do treinamento realizado em idosos para melhorar a função anti-aterogênica da HDL. Em contraste, a prática do exercício, tanto em jovens quanto em idosos, não afetou os parâmetros das lipoproteínas que contém apo B.

**Palavras-chave:** Exercício físico. Envelhecimento. Adulto. Idoso. Metabolismo dos lipídeos. Colesterol. HDL-colesterol.

## Abstract

Braga PGS. Effect of exercise training on HDL metabolism and function in subjects of different ages [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 2022.

**Background:** Coronary artery disease (CAD) is the main cause of mortality worldwide, predominantly affecting elderly individuals. Risk factors control is important to avoid clinical disease manifestation. Exercise training is a major tool for atherosclerosis prevention, providing, among other benefits, the increase of high-density lipoprotein (HDL). The impact of exercise training on metabolic and functional aspects of HDL, which furnished anti-atherosclerosis action, is poorly studied in elderly subjects. **Purpose:** To investigate, in the elderly, compared to young individuals if exercise training may alter parameters related to HDL metabolism and function, such as cholesterol transfer to HDL, HDL subfractions, paraoxonase 1 (PON1) activity, HDL anti-oxidant activity, and other lipoproteins involved in this metabolism. **Methods:** 111 subjects of both sexes were enrolled in this study. Young (20-35 years) and elderly (>60 years). Who practice exercise training for at least by the last year were enrolled in the physically active group: active young (Act-Yng, n=40) and active elderly (Act-Eld, n=25). Those reported who do not practice any exercise training routines at least in the last year formed a physically inactive group: inactive young (Inact-Yng, n=25) and inactive elderly (Inact-Eld, n=21). Physical activity habits were analyzed by International Physical Activity Questionnaire (IPAQ). Volunteers have undergone to cardiopulmonary test for the peak of oxygen uptake (VO<sub>2</sub>peak) obtention. Blood samples were collected after overnight fasting for lipid and apolipoprotein profile determination, HDL size, PON1 activity, the concentration of cholesteryl ester transfer protein (CETP), and lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) and the determination of HDL subfractions. Cholesterol transfer to HDL was performed by incubating plasma with a donor lipoprotein-like nanoparticle containing radioactively labeled unesterified (UC) and esterified cholesterol (EC), followed by chemical precipitation and radioactive count. After chemical precipitation was made radiolabeled count. **Results:** VO<sub>2</sub>peak and HDL-C were higher in Act-Eld and Act-Yng than in Inact-Eld and Inact-Yng, respectively. Apo A-I was higher in Act-Yng in comparison to Inact-Yng, without a difference between Act-Eld and Inact-

Eld. Transfer of UC to HDL was higher in Act-Eld than Inact Eld and in Act-Yng than in Inact-Yng. However, EC transfer to HDL was higher only in Act-Yng than in Inact-Yng, without a difference between Act-Eld and Inact-Eld. HDL intermediate subfractions were higher in Act-Eld in comparison to Inact-Eld and large HDL subfractions were higher in Act-Yng in comparison to Inact-Yng. There were no differences between groups in small HDL subfractions. CETP and LCAT concentrations, PON1 activity, and HDL size were not different between Act-Eld and Inact-Eld and Act-Yng and Inact-Yng. Interestingly, there were no differences in HDL-C, apo A-I, HDL subfractions, and both cholesterol transfers to HDL between Act-Eld and Act-Yng. In respect of apo B-containing lipoproteins, exercise training does not influence these variables. **Conclusion:** Elderly who practice exercise training have better HDL parameters than those that not practice. These results are replicated in young groups. Despite lower VO<sub>2</sub>peak, elderly subjects that practice exercise training show HDL metabolism parameters similar to young subjects that practice exercise, which reinforces the importance of exercise training for the elderly to improve anti-atherosclerosis HDL function. In contrast, exercise training, in young or elderly, does not affect apo B-containing lipoproteins parameters.

**Keywords:** Exercise. Aging. Adult. Aged. Lipid Metabolism. Cholesterol. HDL-cholesterol.



## 1. Introdução

A doença cardiovascular (DCV) é a principal causa de morte em todo o mundo, tanto em homens quanto em mulheres, sendo responsável por aproximadamente 18,6 milhões de óbitos no ano de 2019. Desde 2010, houve aumento de 17,1% nas mortes por DCV no mundo, acometendo cerca de 37% da população com até 70 anos de idade. Quadros clínicos causados pela aterosclerose representam a maior parte dos casos de DCV. Desses, podemos destacar a doença arterial coronária (DAC), o acidente vascular encefálico (AVE) isquêmico e a doença arterial periférica (DAP). Atualmente, a nível mundial, estima-se que 197,2 milhões de pessoas convivem com a DAC (VIRANI et al., 2021). Dados de prevalência no Brasil mostram que mais de 4 milhões de pacientes tinham DAC em 2019, acarretando em 171.246 óbitos pela doença no mesmo ano (OLIVEIRA et al., 2022).

A DAC caracteriza-se pela presença de placas ateroscleróticas, na camada íntima do endotélio das artérias coronárias. As placas são compostas predominantemente por colesterol, principalmente oxidado. Entretanto, o processo inflamatório crônico e as respostas imunológicas locais contribuem para o desenvolvimento da aterosclerose (LIBBY, 2021). Inicialmente, há alterações no endotélio, havendo aumento das moléculas de adesão e quimiocinas que atraem os leucócitos, alterando a permeabilidade do endotélio. Essas mudanças tornam o endotélio mais vulnerável, facilitando a ocorrência de depósito de colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) na camada íntima da artéria. Os monócitos diferenciados em macrófagos captam e fagocitam a LDL oxidada, culminando na formação de células espumosas (STARY et al., 1995; LIBBY, 2021).

Na fase inicial, a placa aterosclerótica não compromete o lúmen arterial. Ao longo dos anos, a exposição aos fatores de risco contribui para a evolução da aterosclerose. O crescimento da placa ocorre devido ao acúmulo de LDL-C, que irá diminuir a luz do vaso, comprometendo o fluxo sanguíneo. Nessa etapa pode ocorrer isquemia, diminuindo a oferta de oxigênio e nutrientes para o miocárdio. A isquemia pode interferir no metabolismo do miocárdio e está associada a angina de peito (STARY et al., 1885; LIBBY, 2013). Além disso, as

placas de ateroma podem sofrer ruptura, ocasionando um evento aterotrombótico (STARY et al., 1995; LIBBY, 2021).

As placas ateroscleróticas nas artérias coronárias podem estar presentes desde a juventude, devido a fatores de risco como as dislipidemias (BERENSON et al., 1998). No entanto, as placas são encontradas em proporções progressivamente maiores em indivíduos mais velhos, os quais são mais acometidos pelos eventos oriundos da DAC (HONG, 2010; SNIDERMAN et al., 2016; VIRANI et al., 2021). Logo, o tempo de exposição aos fatores de risco que influenciam o desenvolvimento da aterosclerose é importante para a incidência de eventos relacionados a DAC. O controle do peso corporal e dos triglicérides (TG), do colesterol total, do LDL-C e do colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-C), além de outros fatores como o hábito de fumar e o controle do diabetes são mandatórios para a prevenção contra a aterosclerose (BERENSON et al., 1998; VIRANI et al., 2021)

Os estudos clássicos de Framingham foram pioneiros na descrição dos fatores de risco para a DAC. Inicialmente, foi demonstrada a associação positiva entre a presença da DAC com as concentrações do colesterol total no sangue (KANDEL et al., 1961). Mais adiante, as atenções se voltaram para um alvo mais específico, o LDL-C. O LDL-C tem forte associação com os eventos coronários, e é um importante alvo terapêutico, pois a redução do LDL-C resultou na diminuição dos eventos relacionados a DAC (LAW; WALD; RUDNICKA, 2003; SABATINE et al., 2017, 2018).

A incessante busca pela diminuição do risco coronariano incorporou as lipoproteínas ricas em TG como mais um alvo terapêutico para a diminuição do risco residual da DAC. Além do papel da hipertrigliceridemia na inflamação, o colesterol da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-C) e seus remanescentes são fatores de risco para a DAC, mesmo com as metas do LDL-C atingidas (BALLING et al., 2020).

Portanto, a dislipidemia é um fator de risco clássico e pode ser caracterizada de diferentes formas: pelas altas concentrações de TG, LDL-C e do não HDL-C, assim como as baixas concentrações do HDL-C (FALUDI et al., 2017). O HDL-C baixo é um fator de risco para a DAC, podendo, o aumento

deste, atenuar o risco (FRANCESCHINI, 2001; GORDON et al., 1977). Portanto, foi postulado, que o quanto maior o HDL-C, maior seria a proteção fornecida por essa lipoproteína contra a aterogênese (GORDON et al., 1977).

Uma das terapias que mais impactaram no HDL-C foi por meio da inibição da proteína de transferência de colesterol esterificado (CETP). O uso desta classe de fármaco, por um período de 12 meses, elevou o HDL-C em 72%, no entanto, falhou na comprovação para a diminuição dos eventos cardiovasculares. Ao contrário do esperado, essa terapia ocasionou o aumento no número de mortes no grupo que recebeu o fármaco, fazendo com que houvesse a interrupção do estudo (BARTER et al., 2007).

Corroborando com esses dados, estudos com randomização mendeliana, mostraram que indivíduos com HDL-C mais altos do que a população geral, oriundos de mutações genéticas, não se beneficiaram da redução do risco de evento coronarianos, em comparação aos indivíduos com valores de HDL-C mais baixos (VOIGHT et al., 2012). Ao contrário do esperado, indivíduos com o HDL-C acima de 90 mg/dL, podem apresentar maiores taxas de mortalidade por DAC (HIRATA et al., 2018; MADSEN; VARBO; NORDESTGAARD, 2017). Dados como esses mostram a complexidade da HDL, principalmente do HDL-C sobre a estratificação de risco coronário. No caso dos inibidores de CETP, uma possível explicação do mecanismo por trás do desfecho observado pode estar no aumento das partículas de HDL quem continham apolipoproteína (apo) C-III, que conseqüentemente, se associam com o aumento do risco coronário (FURTADO et al., 2022). O conjunto desses dados apontam para o amplo campo de investigação: da funcionalidade e do metabolismo da HDL.

No espectro das lipoproteínas plasmáticas, a fração HDL tem as partículas de menor diâmetro, na faixa entre 7 a 13 nanômetros (LANGLOIS et al., 2018), e é constituída de partículas heterogêneas quanto ao tamanho e composição, formadas por mais de 90 proteínas (RAO et al., 2018) e 200 lípidos (KONTUSH; LHOMME; CHAPMAN, 2013). A principal proteína da HDL, a apo A-I, é sintetizada no fígado e no intestino e é lançada no plasma (BREWER et al., 1978). Após a secreção no compartimento plasmático, a apo A-I interage com os transportadores ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) nos macrófagos, captando colesterol e fosfolípidos dos tecidos (CAVIGIOLIO et al.,

2010). A apo A-I recebe lípidos continuamente desses transportadores formando uma partícula discoide, identificada como uma HDL na forma nascente, que contém fosfolípidos e colesterol livre (CL). A maturação da HDL tornando-a, esférica tem participação da lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT), devido a ação na esterificação do colesterol. Ao ser maturada, a HDL interage com os transportadores ATP-binding cassette transporter G1 (ABCG1) dos macrófagos, a fim de captar colesterol (BALLANTYNE, 2009). Por fim, a excreção do colesterol captado pela HDL ocorre no fígado, por meio da ligação da HDL com o receptor scavengers B tipo I (SR-BI).

Portanto, as principais funções da HDL consistem na esterificação e no transporte reverso do colesterol (TRC). A capacidade de efluxo de colesterol da HDL, avaliada in vitro, é independentemente associada ao HDL-C e um método mais acurado para estratificação de risco, pois é inversamente associada com a espessura da íntima-média carotídea, com a presença de DAC (KHERA et al., 2011) e com a incidência de eventos cardiovasculares (ROHATGI et al., 2014). Além da interação com os tecidos, como é o caso do efluxo, a HDL também recebe colesterol no compartimento plasmático, pelo processo de transferência de lípidos entre as lipoproteínas (BALLANTYNE, 2009).

As transferências de lípidos entre as lipoproteínas são mediadas pela CETP, que facilita a troca de colesterol esterificado (CE) e TG entre a HDL e as lipoproteínas que contém apo B; esse comportamento é bidirecional, se concentrando no enriquecimento ou na depleção de um determinado lípido. A HDL troca lípidos com as lipoproteínas que contém apo B, havendo a transferência do CE da HDL para a VLDL/LDL e dos TG da VLDL/LDL para a HDL. Outra proteína que participa desse processo é a proteína de transferência de fosfolípidos (PLTP), que realiza transferência de fosfolípidos e, com menor participação, de CL da VLDL e da LDL para a HDL (BARTER; RYE, 2012; MARANHÃO; FREITAS, 2014).

No Laboratório de Metabolismo e Lípidos do Instituto do Coração, foi desenvolvido um ensaio que mimetiza a transferência de lípidos entre a HDL e as lipoproteínas que contém apo B (MARANHÃO; FREITAS, 2014). O método in vitro, simula as transferências de lípidos para a HDL, e é analisado de maneira unidirecional, quantificando a capacidade da HDL em receber lípidos.

Em pacientes com evento coronário recente, observou-se que a capacidade da HDL de promover o efluxo de colesterol, e as transferências de CE para a HDL estão prejudicadas (SOARES et al., 2019). Nas condições de cunho ateroscleróticos, como na DAC precoce e na DAP, as taxas de transferências de CL para a HDL estão diminuídas em comparação aos grupos sem as respectivas doenças, mesmo sem haver diferença no HDL-C. Esses resultados sugerem, que os distúrbios no metabolismo da HDL, podem estar envolvidos no processo aterosclerótico (MARANHÃO et al., 2012). Em outra análise, também com concentrações de HDL-C similares entre os grupos, pacientes com DAC e AVE prévio, tinham as transferências de CL menores em comparação aos pacientes acometidos apenas pela DAC (BARBOSA et al., 2019).

A captação de CL pela HDL, advinda das lipoproteínas que contém apo B, pode evitar a precipitação de CL nas artérias. O CL pertence a superfície das lipoproteínas e pode se dissociar, se precipitando na camada íntima da artéria. Por outro lado, a HDL tem em sua composição a enzima LCAT, que atua na esterificação do CL. Nesse processo o CL recebe um ácido graxo, dos fosfolípidos da superfície da HDL, se tornando CE, que é um lípido hidrofóbico, logo, se deslocando da superfície para o núcleo da HDL (BALLANTYNE, 2009).

A inatividade física prevalece como um forte fator de risco para a DAC, pois se associa às maiores concentrações de TG e menores de HDL-C (PARK et al., 2015). Em contrapartida, o mínimo de atividade física pode evitar com que haja a redução do HDL-C, além de preservar as transferências de lípidos para a HDL causada pela inatividade física (DE OLIVEIRA et al., 2017).

Visto que a prática de atividade física ou exercício físico, acarretam no aprimoramento da função da HDL, de antemão, cabe colocar que, esses são conceitualmente diferentes. A atividade física tem como definição qualquer movimento corporal intencional, executado pelo músculo esquelético, enquanto o exercício físico envolve uma sequência de movimentos sistematizados e organizados, que tem caráter em manipular variáveis como frequência semanal, volume e intensidade do treino, com um objetivo pré-estabelecido (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2016). Cabe ressaltar que os maiores efeitos referentes a redução da mortalidade por DAC se encontram nos praticantes de exercício

físico. Esses achados foram evidenciados em comparação aos indivíduos fisicamente inativos, e também, aos que praticam atividade física (KODAMA et al., 2009; WILLIAMS, 2001).

O impacto do exercício físico sobre os lípides sanguíneos tem efeito importante no aumento do HDL-C e redução dos TG (FALUDI et al., 2017). Esses efeitos podem ser do tipo dose-resposta, ou seja, quanto maior for a duração, intensidade e frequência semanal da prática de exercício físico, maior o efeito sobre o HDL-C e o TG (CULLINANE et al., 1982; KOKKINOS et al., 1995). O abandono do exercício físico faz com que o HDL-C retorne aos valores de antes do programa de exercício (MOTOYAMA et al., 1995).

O exercício físico aeróbio aumenta o consumo de pico de oxigênio ( $VO_{2pico}$ ) (COUILLARD et al., 2001; DA SILVA et al., 2019), que é um forte indicador de sobrevida livre de eventos coronários (KODAMA et al., 2009). Tanto o aumento do  $VO_{2pico}$ , quanto a manutenção desse ao longo da vida, são protetores contra o desenvolvimento da dislipidemia aterogênica (BRENEMAN et al., 2016; PARK et al., 2015).

A prática de exercício físico pode reduzir, ou pelo menos retardar a evolução da doença aterosclerótica. Inicialmente visto em primatas (KRAMSCH et al., 1981), e posteriormente, no homem, verificou-se que a prática de exercício físico aeróbio pode promover a regressão da placa aterosclerótica, além de alterar a estrutura e morfologia da placa, tornando-a mais estável e menos vulnerável (MADSEN et al., 2014). Em indivíduos com valores altos de  $VO_{2pico}$ , superiores aos níveis esperados para a idade foi observado que as placas tinham menor volume lipídico e maior capa fibrótica em comparação a indivíduos com  $VO_{2pico}$  mais baixos, abaixo do valor predito para a idade (YOSHIKAWA et al., 2013).

Quanto aos aspectos funcionais da HDL, as taxas de transferências de lípides para a HDL estão maiores naqueles que praticam exercício físico aeróbio. Em maratonistas, as transferências de CL para a HDL estão maiores em comparação aos indivíduos que não praticam exercício físico (VAISBERG et al., 2012). Em uma população de idosas fisicamente ativas, as taxas de transferências de CL e CE para a HDL, estão maiores do que nos seus pares

fisicamente inativas (BACHI et al., 2015). Um protocolo de exercício aeróbio, que durou três meses, em pacientes com síndrome metabólica, aumentou as taxas de transferências de CL e CE para a HDL, mesmo sem alterar o HDL-C após a intervenção (CASELLA-FILHO et al., 2011). Por fim, em jovens saudáveis, dezoito semanas de exercício físico aeróbio, provocaram o aumento do HDL-C e das taxas de transferências de CE para a HDL (DA SILVA et al., 2019).

Além da capacidade da HDL de captar colesterol não se associar diretamente ao HDL-C, a atividade da paraoxonase 1 (PON1), que confere função antioxidante a HDL (KONTUSH, 2014), também é independente das concentrações do HDL-C (CERVELATTI et al., 2019). A PON1 é responsável por evitar o acúmulo dos peróxidos lipídicos na LDL, mecanismo preventivo fundamental contra a aterosclerose (MACKNESS et al., 1993). Foi observado em pacientes com DAC, que a atividade e a concentração da PON1, estão menores em comparação aos indivíduos sem a doença (MACKNESS; TURKIE; MACKNESS, 2013).

Em pacientes com síndrome metabólica, a prática de exercício físico aeróbio aumentou a atividade da PON1 após três meses de intervenção, entretanto, não alcançou os valores dos indivíduos saudáveis (CASELLA-FILHO et al., 2011). Isto posto, a prática de exercício físico é uma ferramenta promissora para o aumento da atividade da PON1, podendo influenciar nas concentrações da LDL oxidada (RUSSO et al., 2018). Ademais, a menor atividade da PON1 é encontrada em idosos, em comparação aos jovens, mesmo sem haver diferença no HDL-C entre os grupos (HOLZER et al., 2013).

O efeito do envelhecimento sobre o HDL-C pode ser deletério, diminuindo as concentrações plasmáticas desta lipoproteína (FERRARA; BARRETT-CONNOR; SHAN, 1997), todavia, a prática de exercício físico atenua a queda do HDL-C provocada pela idade (BERGLUND et al., 2021). Em vista disso, estratégias que diminuam os efeitos deletérios da idade sobre o HDL-C e aprimorem as funções da HDL nos idosos, como a prática de exercício físico, pode ter papel fundamental na prevenção da aterosclerose. Além disso, o papel do envelhecimento sobre os aspectos metabólicos e funcionais da HDL não estão completamente elucidados na literatura, principalmente quando analisado

sobre a influência da prática de exercício físico, que parece ter impacto maior do que o peso ou a gordura corporal.

Portanto, é necessário investigar se os possíveis efeitos da prática de exercício físico sobre o metabolismo da HDL são semelhantes entre idosos e jovens, independente do  $VO_2$ pico, pois esse, naturalmente, diminui com o avançar da idade (ZHANG et al., 2021).

Outro aspecto interessante é entender se as doses de exercício físico semanais equivalentes em jovens e idosos podem promover benefícios similares sobre o metabolismo e função da HDL, inclusive no que diz respeito as transferências de colesterol para a HDL, função antioxidante da HDL e na distribuição das subfrações de HDL.



## **2. Objetivo**

Investigar em idosos, comparativamente a indivíduos jovens, se a prática de exercício físico pode alterar parâmetros relacionados ao metabolismo e função da HDL, como as transferências de colesterol, subfrações da HDL, atividade da paraoxonase 1 (PON1), atividade antioxidante da HDL e outras proteínas envolvidas nesse metabolismo.

### 3. Material e Métodos

#### 3.1 Casuística

Trata-se de um estudo transversal no qual os voluntários foram pareados pelo sexo e índice de massa corporal (IMC), dentro das mesmas faixas etárias. Os participantes foram selecionados no Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e no Centro Esportivo Mané Garrincha.

Antes do ingresso no estudo, foi esclarecido aos participantes o objetivo do projeto e os procedimentos aos quais seriam submetidos. Após essas informações, quando de acordo, os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e passaram a fazer parte desse estudo, cujo o Protocolo de Pesquisa (CAAE: 97584818.7.0000.0068) foi aprovado pela Comissão de Ética de Pesquisas do InCor HCFMUSP.

Os critérios de inclusão foram: ter a idade entre 20 e 35 anos, para ingressar no grupo dos jovens e a partir de 60 anos para o grupo dos idosos. Foram alocados nos grupos dos fisicamente ativos àqueles que reportaram estar praticando ao menos um ano de exercício físico, somados no mínimo, 150 minutos de intensidade moderada ou 75 minutos de intensidade vigorosa semanais, conforme reportado pelo participante. A esforço de intensidade moderado foi descrito como aquele em que o indivíduo fique com o fôlego limitado e a fala prejudicada, enquanto o esforço de intensidade vigorosa foi descrito como aquele que é difícil de sustentar por períodos mais longos de tempo e que compromete a fala, quase totalmente, durante a prática (BULL et al., 2020). Esses dados foram documentados e classificados pelo *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ), na sua versão curta (HALLAL et al., 2010). Para integrar os grupos dos inativos era necessário estar sem praticar qualquer tipo de exercício físico há pelo menos um ano e não atingir as recomendações de tempos por semana. Após esse critério, os voluntários foram divididos em quatro grupos: idoso ativo (Id-Atv), idoso inativo (Id-Inat), jovem ativo (Jo-Atv) e jovem inativo (Jo-Inat).

Os critérios de exclusão foram: histórico prévio de AVE hemorrágico ou isquêmico, DAC, doença oncológica ativa, asma, doença pulmonar obstrutiva crônica e o uso prévio ou atual de anabolizantes. Também se enquadraram nos

critérios de exclusão o etilismo crônico (>10 doses/semana, sendo que 1 dose equivale a 1 lata de cerveja), tabagismo, uso de corticoterapia, reposição hormonal e o uso de betabloqueadores. Além disso, a hipertensão arterial grave (pressão arterial  $\geq$  180/110mmHg) e o hipotireoidismo descontrolado também foram considerados como critérios de exclusão.

O uso de estatina não foi um critério de exclusão, apenas foi feita a suspensão desse fármaco 30 dias antes da coleta de sangue. Esta descontinuidade não expõe o indivíduo ao risco de evento coronariano (MCGOWAN, 2004; ZHANG et al., 2017).

Por fim, no momento da coleta de dados, no teste ergoespirométrico, àqueles voluntários que não alcançaram o RQ (quociente respiratório –  $VCO_2/VO_2$ ) de 1,1, ao final do teste, sendo esse um dos parâmetros para determinar um teste efetivamente satisfatório do ponto de vista metabólico, foram excluídos da análise. Além disso, o teste ergoespirométrico foi utilizado complementarmente para sugerir a existência de DAC nos participantes, pois tem sensibilidade de 68% e especificidade de 77% (DETRANO; GIANROSSI; FROELICHER, 1989). Se positivo para isquemia miocárdica de acordo com a avaliação do cardiologista presente durante a execução do teste, o indivíduo foi excluído da amostra do presente estudo.

Para a coleta de sangue, foi solicitado ao voluntário que fizesse o jejum de pelo menos 12 horas antes do horário marcado para a coleta. Foram colhidos 6 tubos, sendo 3 tubos com EDTA e 3 tubos secos. No mesmo dia da coleta foi feita a dosagem do perfil lipídico e de apolipoproteínas, diâmetro da HDL e o restante da amostra foi armazenada no freezer  $-80^{\circ}\text{C}$  para análises posteriores aqui descritas adiante.

### **3.2 Determinações das características antropométricas**

Após a coleta de sangue, realizou-se às medidas antropométricas, iniciando com o cálculo do IMC, utilizando para o peso e altura uma balança com estadiômetro da marca Filizola®.

Foi utilizada uma fita métrica da marca Sanny® para a medição da circunferência abdominal (CA) e circunferência do quadril (CQ). A CA foi aferida a partir do ponto médio entre a última costela flutuante e a crista ilíaca. A CQ foi

aferida a partir da maior porção glútea vista lateralmente. Com os valores das análises descrita foi feito o cálculo da razão cintura quadril (RCQ) (WHO, 2008).

### **3.3 Determinação da capacidade cardiorrespiratória durante o exercício progressivo máximo**

O teste ergoespirométrico consistiu em avaliar a aptidão cardiorrespiratória quantificada pelo consumo de oxigênio de pico ( $VO_{2pico}$ ). O teste foi realizado na Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do Instituto do Coração – HCFMUSP, com a supervisão de um cardiologista.

Os protocolos foram escolhidos pelos avaliadores visando otimizar o tempo ideal do teste, de 8 a 12 minutos, de acordo com a aptidão física reportada por cada indivíduo. No primeiro momento, foi feito o eletrocardiograma em repouso e a pressão arterial foi medida pelo método auscultatório. Logo após, os indivíduos foram submetidos ao teste ergométrico em esteira, por meio de um protocolo rampa, ou seja, com aumento constante da velocidade e inclinação a cada minuto até a exaustão referida pelo voluntário por gestos.

Durante o teste de esforço, o comportamento cardiovascular foi avaliado pelo eletrocardiógrafo. A frequência cardíaca e a pressão arterial foram registradas ao final de cada minuto do teste de esforço e na fase de recuperação, nos minutos 1, 2, 4 e 6. Qualquer alteração eletrocardiográfica observada que possa comprometer o estudo serviu como critério de exclusão.

Simultaneamente ao teste de esforço, o indivíduo foi conectado ao teste ergoespirômetro computadorizado (SensorMedics – Vmax Series modelo Vmax 229 Pulmonary Function/Cardiopulmonary Exercise Testing Instrument), que por meio de um sistema de válvulas e sensores, a ventilação pulmonar foi medida a cada expiração. Pelos sensores de oxigênio ( $O_2$ ) e de dióxido de carbono ( $CO_2$ ), foram analisadas as concentrações de  $O_2$  e  $CO_2$ , respectivamente a cada ciclo respiratório. A partir das análises da ventilação pulmonar e das concentrações dos gases expiratórios, foi calculado o consumo de oxigênio ( $VO_2$ ) e a produção de  $CO_2$ . O  $VO_{2pico}$  foi mensurado em mililitro por quilo de peso corporal por minuto (ml/kg/min), pelo consumo de  $O_2$  obtido no pico do exercício. Esse momento foi obtido quando o indivíduo não conseguiu sustentar a carga de trabalho imposta pela esteira: velocidade e a inclinação, ou seja, sem conseguir

continuar com o esforço, e assim gesticulado para que houvesse interrupção do teste (SKINNER; MCLELLAN, 1980).

A partir dos dados fornecidos no teste, foi calculada a porcentagem do valor predito do  $VO_{2pico}$  para idade conforme o sexo masculino e feminino (MYERS et al., 2017). Após obter o valor do  $VO_{2pico}$ , foi calculado o equivalente metabólico (MET) ( $MET = VO_{2pico}/3.5$ ). A análise do slope da eficiência no consumo de oxigênio (OUES), foi calculado pelos dados fornecidos a partir do teste cardiopulmonar. Utilizando a relação linear entre o  $VO_2$  (ml/min) e a VE (L/min), pela equação:  $Y=ax+b$ , onde:  $y=VO_2$ ;  $a$ =ritmo de aumento do  $VO_2$  em resposta ao aumento da VE;  $b$ =intercepto, definido pelo  $VO_2$  em repouso; e  $x=VE$ , transformada em LOG na base<sub>10</sub> devido o comportamento da VE não linear durante o esforço. A partir da constante  $a$  foi calculado o OUES, que foi analisado do início do teste até o esforço de pico (BABA et al., 1996).

### **3.4 Determinações bioquímicas séricas**

Os níveis séricos de HDL-C, CT e TG foram dosados por método colorimétrico enzimático, utilizando-se o kit Flex<sup>®</sup> reagente cartridge, equipamento Dimension RXL, Siemens Healthcare (Newark, USA).

O não-HDL-C foi calculado ( $N\grave{a}o-HDL-C = Colesterol\ total - HDL-C$ ), assim como a concentração da LDL-C, que foi estimada pela equação de Friedewald ( $LDL-C\ mg/dL = CT - HDL-C - (Triglicer\ ideos/5)$ ) (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972). As apo A-I e apo B foram dosadas por imunonefelometria nos Sistema ProSpec<sup>®</sup>.

### **3.5 Determinação do diâmetro da partícula de HDL**

A HDL foi separada por precipitação química das lipoproteínas que contém apolipoproteína B por meio da adição de 500  $\mu$ L polietilenoglicol 8000 (200g/L) em 500  $\mu$ L de plasma em tubo eppendorf de 1,5 ml. Para homogeneização o microtubo foi levado ao Vortex Kasvi, Multifunctional (Curitiba, Brasil) por 30 segundos e logo após foi para uma microcentrífuga Eppendorf, Centrifuge 5415C (Germany) durante 5 min a 10.000 rpm. Foi aspirado 500  $\mu$ L do sobrenadante contendo HDL e diluído em solução de NaCl (0,15M) e, em seguida, filtrado em filtro Millipore 0,22  $\mu$ m de diâmetro.

O diâmetro da HDL foi medido em cubeta Sarstedt (Germany) por espalhamento de luz em equipamento (Zetasizer – nano series – Nano-ZS90, MalvernInstr, Worcestershire, Reino Unido). O diâmetro foi expresso em uma curva de distribuição que corresponde ao resultado médio obtido em 10 corridas de 1 minuto cada (LIMA; MARANHÃO, 2004).

### 3.6 Determinação da atividade da paraoxonase 1 (PON1)

A atividade da PON1 foi determinada pela adição de 500 µL de tampão Tris-HCl 0,1 M e pH 8,5, contendo 2 mmol/L de CaCl<sub>2</sub> e 1,1 mmol/L de paraoxon a 25 µL de soro. 200 µL de amostra foram aplicados em microplaca de 96 poços em duplicata. A leitura foi feita em leitor de microplacas com comprimento de onda de 405 nanômetros e temperatura de 37°C (Multilabel Reader Victor™X3, PerkinElmer, Massachusetts, EUA). Para o cálculo da atividade, foram feitas 6 leituras em intervalos de um minuto cada. O resultado foi obtido multiplicando-se a média da variação das absorbâncias pelo fator descrito abaixo, conforme cálculo do Fator:

$$FATOR = \frac{VTR}{\epsilon_{405} \times VA \text{ (mL)} \times E \text{ (cm)}}$$

onde,

VTR (volume total da reação) = 525 µL (500 µL solução + 25 µL soro)

$\epsilon_{405} = 18050 \text{ L M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

VA (volume da amostra) = 25 µL

E (espessura do poço da placa) = 1 cm

Substituindo-se os valores e ajustando-os para as unidades internacionais temos:

Fator = 1163,43 nmol mL<sup>-1</sup>

*Cálculo da Atividade:*

Atividade da Paraoxonase = Fator x  $\Delta\text{abs}/\text{min} = 1163,43 \times \Delta\text{absnmol min}^{-1} \text{ mL}^{-1}$

onde,

$\Delta\text{abs}$  = é média da variação das absorbâncias medidas a cada minuto

(AGACHAN et al., 2004; SENTÍ et al., 2003).

### 3.7 Capacidade antioxidante da HDL

A avaliação da capacidade antioxidante da HDL é feita com um substrato oxidável, nesse caso a LDL, o  $\text{CuSO}_4$  como agente oxidante e a HDL obtida do soro de cada voluntário, como o fator antioxidante (ESTERBAUER et al., 1989).

Para a obtenção da LDL, foi obtido sangue de voluntários saudáveis coletados em tubos seco para a obtenção de soro (3000 rpm, 15 min, a  $5^\circ\text{C}$ ). O pool de soro foi submetido à ultracentrifugação sequencial (56.000 rpm, 6h e  $4^\circ\text{C}$ ) após ajuste de densidade com solução salina a 1,019 g/mL. Ao final do processo, a fração VLDL foi removida. Em seguida, a densidade do soro remanescente foi ajustada para 1,063 g/mL com brometo de potássio (KBr), seguida de uma segunda ultracentrifugação, conforme descrito acima. A LDL obtida foi então submetida a diálise contra tampão Tris-HCl 20 mM pH 7,4 por 4 horas, com trocas a cada 1 hora, a  $4^\circ\text{C}$ .

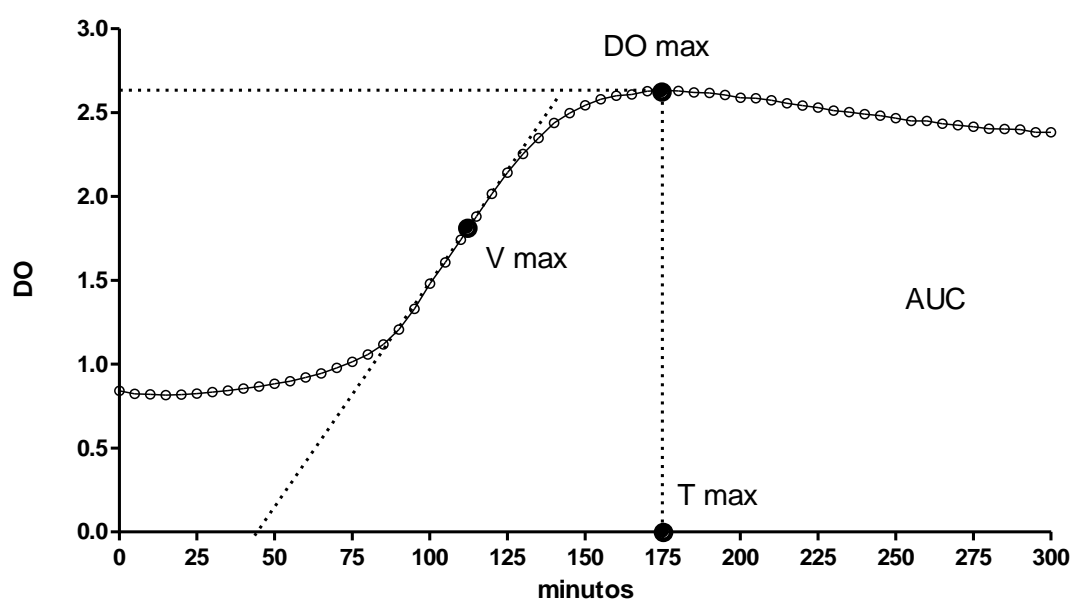
Para obtenção da HDL de cada participante, foi adicionado ao soro o ácido fosfotungstico e cloreto de magnésio, conforme as instruções do kit comercial de Colesterol HDL® (Labtest, Minas Gerais, Brasil). As amostras foram centrifugadas (3.500 rpm, 15 min,  $4^\circ\text{C}$ ) para precipitação das lipoproteínas contendo apo B (VLDL, LDL e quilomícrons). A HDL presente no sobrenadante foi separada e mantida na geladeira para uso em até 24 h.

Para a quantificação das proteínas totais da HDL e da LDL foi utilizado o kit comercial Bradford® (Bio-Rad Laboratories Inc, Hercules, California, EUA). A LDL e a HDL foram diluídas em PBS sem EDTA, para concentração final proteica de  $83\mu\text{g/mL}$  e de  $200\mu\text{g/mL}$ , respectivamente.

A oxidabilidade de LDL foi monitorada em espectrofotômetro (ESTERBAUER et al., 1989). Foram pipetados  $100\mu\text{L}$  da LDL diluída em todos os poços e, em seguida,  $100\mu\text{L}$  da HDL diluída de cada paciente foram adicionados no respectivo poço. A mistura LDL+HDL foi mantida a  $37^\circ\text{C}$  por 10 minutos. A peroxidação foi iniciada com adição de solução aquosa de sulfato de cobre  $30\mu\text{M}$  ( $50\mu\text{L/poço}$ ). A absorbância foi mensurada a 234nm, durante 5 horas, com leituras a cada 5 minutos.

Portanto, foram obtidos os dados da taxa máxima de peroxidação lipídica ( $V_{max}$ ), a partir do declive da curva de absorbância durante a fase de propagação, isto é:  $\Delta$  absorbância/  $\Delta$  tempo. Também foi obtido o dado da produção máxima de dienos conjugados em DO (densidade óptica), o tempo para produção máxima de dienos conjugados ( $T_{max}$ ), em minutos e, por último, a área sobre a curva gerada (AUC).

**Figura 1.** Gráfico obtido na análise da capacidade antioxidante da HDL



Abrevituras: DO: densidade óptica;  $V_{max}$ : taxa máxima de peroxidação lipídica;  $T_{max}$ : tempo para a produção máxima de dienos conjugados; AUC: área sobre a curva.

### 3.8 Ensaio de transferência de colesterol livre e esterificado de uma nanopartícula lipídica artificial para HDL

O ensaio de transferência foi realizado a partir de uma nanopartícula lipídica artificial preparada conforme técnica anteriormente descrita (GINSBURG; SMALL; ATKINSON, 1982; MARANHÃO et al., 1993). Em um frasco foram pipetados 40 mg de fosfatidilcolina, 20 mg de oleato de colesterol, 1mg de trioleína e 0,5 mg de colesterol. Posteriormente, foram adicionados à mistura de lípidos os isótopos  $^3\text{H}$ -colesterol esterificados (CE) e  $^{14}\text{C}$ -colesterol livre (CL). Após a adição de 10 mL de tampão tris-HCl 0,01M, pH 8, a mistura de lípidos foi emulsificada por irradiação ultrassônica, utilizando-se equipamento



Branson, modelo 450A (Arruda Ultra-Som, São Paulo, Brasil) potência 125 watts, durante 3 horas, sob atmosfera de nitrogênio, com temperatura variando entre 51 a 55°C.

A solução lipídica foi purificada em duas etapas de ultracentrifugação (Optima™ XL-100K Ultracentrifuge, rotor SW-41, Beckman, EUA). Na primeira etapa, o material da parte superior do tubo, resultante da centrifugação a 200.000 x g por 30 minutos, a 4°C, foi removido por aspiração (1mL) e desprezado. Ao restante do material foi adicionado KBr ajustando a densidade para 1,21 g/mL. Após a segunda centrifugação (200.000 x g por 2 horas a 4°C), a nanopartícula lipídica artificial foi recuperada no topo do tubo por aspiração. O excesso de KBr foi removido por diálise, contra 2 trocas de 1000 volumes tampão tris HCl0,01, pH 8. Por fim, a nanopartícula foi esterilizada por filtração em membrana Milipore de 0,22 µm de porosidade sob fluxo laminar e armazenada a 4°C por até 15 dias.

Uma alíquota de 200 µL de plasma dos participantes foi incubada com 50 µL da nanopartícula, a 37°C, sob agitação, durante 1 hora. Após esse procedimento, foram adicionados 250 µL de reagente precipitante (0,2% dextran/0,3 mol/L MgCl<sub>2</sub>) seguida de agitação por 30 segundos e centrifugação por 10 minutos, a 3.000 rpm. O infranadante, contendo a nanopartícula e as lipoproteínas plasmáticas que contém apo-B, foi desprezado. O sobrenadante, contendo a HDL, foi submetido à contagem da radioatividade em contador beta (LiquidScintillation Analyzer-TRI-CARB2100TR, PerkinElmer, Massachusetts, EUA), que corresponde à transferência dos lípides radioativos da nanopartícula lipídica para a HDL do indivíduo. Foi calculada a porcentagem de transferência de cada um dos lípides radioativos, considerando como 100%, a radioatividade total utilizada na incubação.

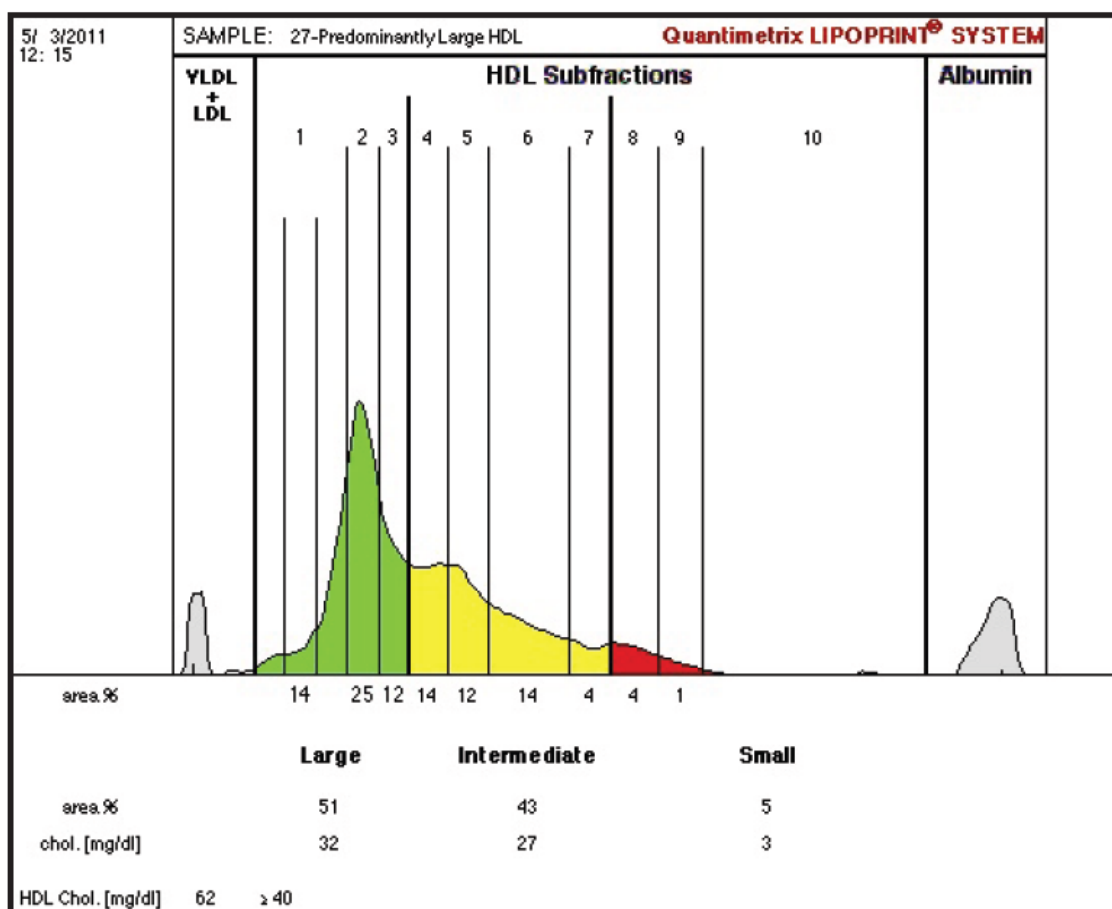
### **3.9 Determinação da concentração de CETP e de LCAT**

A concentração de CETP e de LCAT foi determinada pelo método ELISA (Alpco, EUA).

### 3.10 Quantificação das subfrações da HDL

O tamanho das partículas de HDL foi determinado pelo sistema Lipoprint® System (Quantimetrix Corporation). Para a preparação das amostras foi pipetado 25 µl de plasma e 300 µl de gel contendo corante lipofílico. Após homogeneização feita por sete vezes, a amostra aplicada ao gel de poliacrilamida passou pelo processo de fotopolimerização por trinta minutos, seguida de corrida em tampão de eletroforese. As bandas mostraram a quantidade relativa de partículas lipoproteicas por amostra, seguindo ordem decrescente de tamanho de partículas. O kit identifica 1 banda de VLDL + LDL e 10 subfrações de HDL, sendo as bandas 1 a 3 consideradas as partículas grandes, as bandas 4 a 7 classificadas como intermediárias e as bandas 8 a 10 consideradas como partículas pequenas. A última banda expressa na eletroforese é formada pela albumina. A área relativa para cada subclasse de HDL foi determinada pela concentração de colesterol associado à HDL em cada amostra.

**Figura 2.** Imagem obtida na quantificação das subfrações da HDL.



### 3.11 Cálculo do tamanho da amostra

O cálculo do tamanho amostral abaixo usou como referência o percentual de variação das taxas de transferência de CL de uma nanopartícula lipídica artificial para HDL observado em um trabalho anteriormente publicado (BACHI et al., 2015):

Número de grupos: 4 grupos

Parâmetros utilizados:

$\alpha=0,05$

$1-\beta=0,80$

Médias: 6,8 e 8,2

Desvio Padrão: 1,6

Portanto, são necessários pelo menos 21 participantes por grupo.

### 3.12 Análises estatísticas

Para a análise estatística foi utilizado o programa GraphPad Prism versão 5.00. As variáveis categóricas como a distribuição dos sexos entre os grupos e o uso de medicações, foram analisadas pelo teste qui-quadrado.

Para verificar a distribuição das variáveis contínuas foi realizada a normalização dos dados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov.

Nas comparações entre os quatro grupos, foi feita a análise de variância (ANOVA) seguidas de comparações múltiplas de Bonferroni para os dados com distribuição normal. Nos dados com distribuição não normal, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis seguido de comparações múltiplas de Dunn. Os testes foram realizados com o nível de significância de 5%, considerando significância valor de  $p<0,05$ .

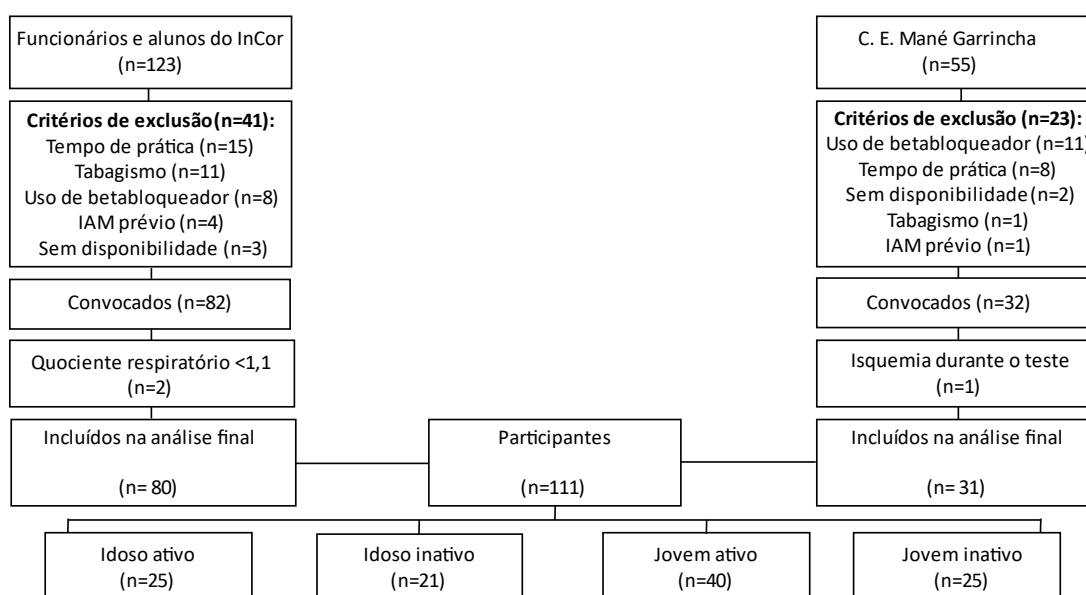
Para as análises de correlação, foram utilizados os coeficientes de Spearman e Pearson, de acordo com a distribuição do dado.

Os dados normais estão expostos em média  $\pm$  desvio padrão e os não normais em mediana (mínima:máxima).

## 4. Resultados

A Figura 3 mostra o fluxograma de voluntários do presente estudo. Foram recrutados os alunos e funcionários do InCor – HCFMUSP, e os participantes das atividades do Centro Esportivo Mané Garrincha.

**Figura 3.** Fluxograma de participantes.



Abreviações: C.E.: Centro Esportivo; IAM: infarto agudo do miocárdio.

Não houve diferença quanto ao uso dos fármacos levotiroxina, antagonista do receptor de angiotensina e estatinas entre os grupos Id-Atv e Id-Inat.

Os dados referentes a distribuição dos sexos, idade e os dados antropométricos dos grupos estudados estão descritos na Tabela 1. No que tange a idade, não houve diferença entre os grupos das mesmas faixas etárias, apenas entre jovens e idosos.

No que diz respeito a antropometria, o IMC e a CA foram maiores nos Id-Inat em comparação aos Jo-Atv ( $p<0,05$  e  $p<0,001$ , respectivamente) e Jo-Inat ( $p<0,01$ ). A RCQ foi maior nos Id-Atv em comparação aos Jo-Atv ( $p<0,001$ ), e maior nos Id-Inat em comparação aos Jo-Atv ( $p<0,001$ ) e Jo-Inat ( $p<0,01$ )

**Tabela 1 – Sexo, idade e dados antropométricos dos grupos estudados**

<b>Parâmetros</b>	<b>Id-Atv</b> (n=25)	<b>Id-Inat</b> (n=21)	<b>Jo-Atv</b> (n=40)	<b>Jo-Inat</b> (n=25)	<b>p</b>
Sexo (M/F)	10/15	12/9	23/17	11/14	0,4437
Idade (anos)	65 (60:80) <sup>a, b</sup>	67 (60:79) <sup>c, d</sup>	29 (20:34)	25 (20:35)	<0,0001
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24,4 (18,6:30,3)	27,8 (20,4:39,2) <sup>e, f</sup>	24,6 (18,0:29,3)	22,6 (18,8:33,7)	0,0024
CA (cm)	86 (68:113)	96 (73:110) <sup>c, f</sup>	82 (62:95)	80 (64:110)	<0,0001
RCQ (cm)	0,9 (0,8:1,0) <sup>a</sup>	0,9 (0,8:1,1) <sup>c, f</sup>	0,8 (0,7:0,9)	0,9 (0,7:1,0)	<0,0001

Dados expressos em mediana (mínima:máxima). Abreviaturas: Id-Atv: Idoso Ativo; Id-Inat: Idoso Inativo; Jo-Atv: Jovem Ativo; Jo-Inat: Jovem Inativo; IMC: índice de massa corporal; CA: circunferência abdominal; RCQ: relação cintura-quadril; <sup>a</sup> – Id-Atv vs. Jo-Atv: p<0,001; <sup>b</sup> – Id-Atv vs. Jo-Inat: p<0,001; <sup>c</sup> – Id-Inat vs. Jo-Atv: p<0,001; <sup>d</sup> – Id-Inat vs. Jo-Inat: p<0,001; <sup>e</sup> – Id-Inat vs. Jo-Atv: <0,05; <sup>f</sup> – Id-Inat vs. Jo-Inat: <0,01.

Na Tabela 2 estão apresentados os dados referentes ao teste ergoespirométrico dos grupos estudados. Primeiramente abordando o efeito da prática de exercício físico, o VO<sub>2</sub> do primeiro limiar (p<0,05), de pico (p<0,05), predito para idade (p<0,001) e o MET (p<0,05) foram maiores nos Id-Atv em comparação aos Id-Inat. Nos jovens, o VO<sub>2</sub> absoluto (p<0,01), do primeiro limiar (p<0,01), de pico (p<0,001), predito para a idade (p<0,001), o MET (p<0,001) e o OUES (p<0,001) foram maiores nos Jo-Atv em comparação aos Jo-Inat.

No que tange a diferença entre as idades, o VO<sub>2</sub> absoluto (p<0,001), do primeiro limiar (p<0,001), de pico (p<0,001), MET (p<0,001) e OUES (p<0,001) foram maiores nos Jo-Atv em comparação aos Id-Atv. Apenas o VO<sub>2</sub> predito para a idade foi maior nos Id-Atv em comparação aos Jo-Atv (p<0,001). Nos inativos, o VO<sub>2</sub> absoluto (p<0,05), do primeiro limiar (p<0,05), pico (p<0,001) e o MET

( $p < 0,001$ ) foram maiores nos Jo-Inat do que nos Id-Inat. Apenas o  $VO_2$  predito para a idade ( $p < 0,001$ ) foi maior nos Id-Inat do que nos Jo-Inat.

Outras diferenças foram encontradas, como o maior  $VO_2$  absoluto ( $p < 0,001$ ), do primeiro limiar ( $p < 0,001$ ), pico ( $p < 0,001$ ), MET ( $p < 0,001$ ) e OUES ( $p < 0,001$ ) nos Jo-Atv em comparação aos Id-Inat. Nos Id-Atv em comparação aos Jo-Inat o  $VO_2$  pico ( $p < 0,05$ ) e o MET ( $p < 0,05$ ) foram menores. O  $VO_2$  predito para a idade foi maior nos Id-Atv em comparação aos Jo-Inat ( $p < 0,001$ ).

Os dados referentes a concentração plasmática dos lípides e apolipoproteínas dos grupos estudados estão expostos na Tabela 3. No que tange a prática de exercício físico, o HDL-C foi maior nos Id-Atv e nos Jo-Atv em comparação aos Id-Inat ( $p < 0,001$ ) e aos Jo-Inat ( $p < 0,01$ ), respectivamente. A apo A-I foi maior apenas nos Jo-Atv ( $p < 0,01$ ) em comparação aos Jo-Inat, sem haver diferença entre Id-Atv e Id-Inat. Também não houve diferença no LDL-C, Não HDL-C, TG e apo B entre os Id-Atv e Id-Inat e entre os Jo-Atv e Jo-Inat.

No que diz respeito a idade, não houve diferença nas concentrações de HDL-C, apo A-I e TG entre Id-Atv e Jo-Atv. Entre os Id-Inat e Jo-Inat o HDL-C foi igual, no entanto, a apo A-I foi maior nos Id-Inat em comparação aos Jo-Inat ( $p < 0,05$ ). Nos Id-Atv o colesterol total ( $p < 0,01$ ), LDL-C ( $p < 0,05$ ), não HDL-C ( $p < 0,01$ ) e as concentrações da apo B ( $p < 0,05$ ) foram maiores em comparação aos Jo-Atv. Nos Id-Inat o colesterol total ( $p < 0,05$ ), o não HDL-C ( $p < 0,05$ ), os TG ( $p < 0,05$ ) e a apo B ( $p < 0,01$ ) foram maiores do que nos Jo-Inat.

Outras diferenças foram reportadas, como nos Id-Atv em que o colesterol total ( $p < 0,001$ ), o HDL-C ( $p < 0,001$ ), o LDL-C ( $p < 0,05$ ), o não HDL-C ( $p < 0,05$ ) e as apo A-I ( $p < 0,001$ ) e B ( $p < 0,01$ ) foram maiores em comparação aos Jo-Inat. Em comparação aos Id-Inat, o HDL-C ( $p < 0,05$ ) dos Jo-Atv foi maior, entretanto, o não HDL-C ( $p < 0,01$ ), os TG ( $p < 0,001$ ) e a apo B ( $p < 0,05$ ) foram maiores nos Id-Inat do que nos Jo-Atv.

**Tabela 2 – Teste ergoespirométrico dos grupos estudados**

<b>Parâmetros</b>	<b>Id-Atv</b> (n=25)	<b>Id-Inat</b> (n=21)	<b>Jo-Atv</b> (n=40)	<b>Jo-Inat</b> (n=25)	<b>p</b>
VO <sub>2</sub> absoluto (L/min)	2,0 (1,3:3,2) <sup>a</sup>	1,8 (1,2:2,7) <sup>b, c</sup>	3,4 (2,1:4,4) <sup>d</sup>	2,3 (1,4:3,8)	<0,0001
VO <sub>2</sub> do primeiro limiar (ml/kg/min)	22,7 ± 3,0 <sup>a, e</sup>	18,4 ± 3,7 <sup>b, c</sup>	32,1 ± 6,5 <sup>f</sup>	23,0 ± 4,6	<0,0001
Slope (VE/VCO <sub>2</sub> )	31 (24:38)	31 (23:41)	29 (23:37)	31 (22:37)	0,0895
VO <sub>2</sub> pico (ml/kg/min)	32,7 ± 5,1 <sup>a, e, g</sup>	27,2 ± 5,9 <sup>b, h</sup>	46,7 ± 5,1 <sup>f</sup>	37,9 ± 7,7	<0,0001
VO <sub>2</sub> Predito para a idade (%)	121 ± 18 <sup>a, i, j</sup>	102 ± 15 <sup>h</sup>	108 ± 10 <sup>f</sup>	85 ± 9	<0,0001
MET	9,3 ± 1,4 <sup>a, e, g</sup>	7,7 ± 1,7 <sup>b, h</sup>	13,4 ± 1,6 <sup>f</sup>	10,6 ± 1,8	<0,0001
OUES (mL)	2331 ± 581 <sup>a</sup>	2117 ± 405 <sup>b</sup>	3550 ± 827 <sup>f</sup>	2632 ± 762	<0,0001

Dados expressos em média ± desvio padrão ou mediana (mínima:máxima). Abreviaturas: Id-Atv: Idoso Ativo; Id-Inat: Idoso Inativo; Jo-Atv: Jovem Ativo; Jo-Inat: Jovem Inativo; VO<sub>2</sub>: consumo de oxigênio; MET: unidade metabólica; OUES: oxygen uptake efficiency slope; <sup>a</sup> – Id-Atv vs. Jo-Atv: <0,001; <sup>b</sup> – Id-Inat vs. Jo-Atv: <0,001; <sup>c</sup> – Id-Inat vs. Jo-Inat: <0,05; <sup>d</sup> – Jo-Atv vs. Jo-Inat: <0,01; <sup>e</sup> – Id-Atv vs. Id-Inat: <0,05; <sup>f</sup> – Jo-Atv vs. Jo-Inat: <0,001; <sup>g</sup> – Id-Atv vs. Jo-Inat: <0,05; <sup>h</sup> – Id-Inat vs. Jo-Inat: <0,001; <sup>i</sup> – Id-Atv vs. Id-Inat: <0,001; <sup>j</sup> – Id-Atv vs. Jo-Inat: <0,001.

Na Tabela 4 estão expostos os dados do diâmetro da HDL, da concentração da CETP e da LCAT e as taxas de transferências de CE e CL para a HDL dos grupos estudados. Referente a prática de exercício físico, nos Id-Atv, as transferências de CL para a HDL foram maiores do que nos Id-Inat ( $p < 0,01$ ), no entanto, não houve diferença nas transferências de CE para HDL. Nos Jo-Atv, as transferências de CL ( $p < 0,05$ ) e CE ( $p < 0,05$ ) foram maiores comparação aos Jo-Inat. As transferências de CE ( $p < 0,001$ ) e CL ( $p < 0,001$ ) foram maiores nos Id-Atv em comparação aos Jo-Inat. Não houve diferença nas transferências de CE e CL para a HDL entre os Id-Atv e os Jo-Atv.

As concentrações da CETP foram maiores nos Id-Atv ( $p < 0,001$ ) do que nos Jo-Atv e maior nos Id-Atv do que nos Jo-Inat ( $p < 0,01$ ). Não houve diferença nas concentrações da CETP entre os Id-Atv e os Jo-Atv. O diâmetro da HDL e a concentração da LCAT foram similares entre os grupos estudados.

Na Tabela 5 estão expostos os dados da atividade da PON1 e a da atividade antioxidante da HDL. Não houve diferença na atividade da PON1, na taxa máxima de peroxidação lipídica, no tempo para a produção máxima de dienos conjugados, na produção máxima de dienos conjugados e na área sobre a curva dos grupos estudados.

Na Figura 4 estão expostos os resultados da distribuição das subfrações de HDL dos grupos estudados. No que diz respeito a prática de exercício físico, as subfrações intermediárias foram maiores nos Id-Atv em comparação aos Id-Inat ( $p < 0,001$ ). As subfrações grandes foram maiores nos Jo-Atv em comparação aos Jo-Inat ( $p < 0,01$ ). Referente a idade, as subfrações grandes foram maiores nos Id-Inat do que nos Jo-Inat ( $p < 0,05$ ).

Outras diferenças foram encontradas, como as subfrações grandes de HDL foram maiores nos Id-Atv em comparação aos Jo-Inat ( $p < 0,001$ ). Também foi observado que as subfrações intermediárias foram maiores nos Jo-Atv em comparação aos Id-Inat ( $p < 0,001$ ) e maior nos Id-Atv em comparação aos Jo-Inat ( $p < 0,01$ ). Não houve diferenças nas subfrações de HDL pequenas entre os grupos estudados. Além disso, as três subfrações de HDL foram semelhantes entre os Id-Atv e os Jo-Atv.



**Tabela 3 – Perfil lipídico e de apolipoproteínas dos grupos estudados**

<b>Parâmetros</b>	<b>Id-Atv</b> (n=25)	<b>Id-Inat</b> (n=21)	<b>Jo-Atv</b> (n=40)	<b>Jo-Inat</b> (n=25)	<b>p</b>
<b>Colesterol (mg/dL)</b>					
Total	216 ± 35 <sup>a, b</sup>	203 ± 31 <sup>c</sup>	181 ± 37	168 ± 40	<0,0001
LDL	130 ± 30 <sup>d, e</sup>	127 ± 24	107 ± 37	104 ± 35	0,0047
HDL	67 ± 14 <sup>b, f</sup>	51 ± 14 <sup>g</sup>	61 ± 15 <sup>h</sup>	49 ± 14	<0,0001
Não HDL	149 ± 35 <sup>a, e</sup>	152 ± 28 <sup>c, i</sup>	120 ± 37	119 ± 39	0,0003
Triglicérides (mg/dL)	79 (29:250)	122 (34:217) <sup>c, j</sup>	63 (24:115)	67 (20:227)	0,0003
<b>Apolipoproteínas (g/L)</b>					
A-I	1,7 ± 0,2 <sup>b</sup>	1,5 ± 0,3 <sup>c</sup>	1,6 ± 0,3 <sup>h</sup>	1,3 ± 0,3	<0,0001
B	1,0 ± 0,2 <sup>d, k</sup>	1,0 ± 0,2 <sup>g, l</sup>	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,0002

Dados expressos em média ± desvio padrão ou mediana (mínima:máxima). Abreviaturas: Id-Atv: Idoso Ativo; Id-Inat: Idoso Inativo; Jo-Atv: Jovem Ativo; Jo-Inat: Jovem Inativo; HDL: high density lipoprotein; LDL: low density lipoprotein; <sup>a</sup> – Id-Atv vs. Jo-Atv: <0,01; <sup>b</sup> – Id-Atv vs. Jo-Inat: <0,001; <sup>c</sup> – Id-Inat vs. Jo-Inat: <0,05; <sup>d</sup> – Id-Atv vs. Jo-Atv: p<0,05; <sup>e</sup> – Id-Atv vs. Jo-Inat: p<0,05; <sup>f</sup> – Id-Atv vs. Id-Inat: p<0,001; <sup>g</sup> – Id-Inat vs. Jo-Atv: p<0,05; <sup>h</sup> – Jo-Atv vs. Jo-Inat: p<0,01; <sup>i</sup> – Id-Inat vs. Jo-Atv: <0,01; <sup>j</sup> – Id-Inat vs. Jo-Atv: <0,001; <sup>k</sup> – Id-Atv vs. Jo-Inat: <0,01; <sup>l</sup> – Id-Inat vs. Jo-Inat: <0,01.

Na Tabela 6 estão expostos os dados de correlação de toda a amostra estudada. O IMC se associou positivamente com as concentrações de não HDL-C ( $r=0,2299$ ;  $p=0,0152$ ), de TG ( $r=0,2686$ ;  $p=0,0044$ ), de apo B ( $r=0,2072$ ;  $p=0,0299$ ) e negativamente com o HDL-C ( $r=-0,2640$ ;  $p=0,0051$ ),  $VO_2$ pico ( $r=-0,3026$ ;  $p=0,0013$ ) e com as subfrações de HDL intermediárias ( $r=-0,1895$ ;  $p=0,0464$ ).

As concentrações da LCAT se correlacionaram positivamente com as concentrações do colesterol total ( $r=0,3634$ ;  $p=0,0001$ ), LDL-C ( $r=0,3168$ ;  $p=0,0010$ ), Não HDL-C ( $r=0,3428$ ;  $p=0,0003$ ), TG ( $r=0,3369$ ;  $p=0,0004$ ), apo A-I ( $r=0,2131$ ;  $p=0,0290$ ), apo B ( $r=0,3596$ ;  $p=0,0001$ ), com as transferências de CL ( $r=0,4381$ ;  $p<0,0001$ ) e de CE ( $r=0,3971$ ;  $p<0,0001$ ) para a HDL. A LCAT também se associou positivamente com as subfrações de HDL intermediárias ( $r=0,2248$ ;  $p=0,0211$ ) e com as concentrações de CETP ( $r=0,3216$ ;  $p<0,0008$ ). Por outro lado, as concentrações de LCAT se correlacionaram negativamente apenas com o  $VO_2$ pico ( $r=-0,2048$ ;  $p=0,0361$ ).

As concentrações de CETP se correlacionaram positivamente com as transferências de CL ( $r=0,2880$ ;  $p=0,0022$ ) e de CE ( $r=0,2795$ ;  $p=0,0030$ ) para a HDL, e negativamente com o  $VO_2$ pico ( $r=-0,2455$ ;  $p=0,0097$ ).

A atividade da PON1 se correlacionou positivamente com as transferências de CE ( $r=0,1917$ ;  $p=0,0438$ ) para a HDL.

O diâmetro da HDL se correlacionou positivamente com o HDL-C ( $r=0,2119$ ;  $p=0,0256$ ), com a apo A-I ( $r=0,2126$ ;  $p=0,0258$ ), com as transferências de CL ( $r=0,3436$ ;  $p=0,0002$ ) e de CE ( $r=0,3848$ ;  $p<0,0001$ ) para a HDL, e também com as subfrações pequenas de HDL ( $r=0,1924$ ;  $p=0,0431$ ).

As HDL pequenas se correlacionaram positivamente com o colesterol total ( $r=0,2158$ ;  $p=0,0230$ ), com o HDL-C ( $r=0,5663$ ,  $p<0,0001$ ), com a apo A-I ( $r=0,5046$ ,  $p<0,0001$ ), com as transferências de CL ( $r=0,2496$ ;  $p=0,0082$ ) para a HDL e com as subfrações de HDL grandes ( $r=0,2986$ ;  $p=0,0015$ ). Por outro lado, as subfrações de HDL pequenas se correlacionaram negativamente com as concentrações de TG ( $r=-0,2000$ ;  $p=0,0353$ ).

**Tabela 4** – Características estruturais, funcionais e metabólicas da HDL dos grupos estudados.

<b>Parâmetros</b>	<b>Id-Atv</b> (n=25)	<b>Id-Inat</b> (n=21)	<b>Jo-Atv</b> (n=40)	<b>Jo-Inat</b> (n=25)	<b>p</b>
Diâmetro da HDL (nm)	9,2 (8,5:9,7)	9,1 (8,7:9,7)	9,2 (8,6:10,0)	9,2 (8,4:9,5)	0,3729
CETP (ug/mL)	1,1 (0,5:2,3) <sup>a, b</sup>	0,9 (0,4:1,4)	0,6 (0,2:1,5)	0,7 (0,3:1,4)	0,0002
LCAT (ug/mL)	8,9 ± 2,1	8,0 ± 0,7	7,6 ± 1,2	7,9 ± 1,8	0,0719
Transferência de colesterol pra a HDL (%)					
CE	4,7 (3,6:5,6) <sup>c</sup>	4,2 (3,8:5,9)	4,2 (3,4:6,1) <sup>d</sup>	3,8 (2,7:5,0)	0,0001
CL	6,4 (4,8:8,9) <sup>c, e</sup>	5,5 (3,8:8,2)	6,0 (4,4:9,5) <sup>d</sup>	5,3(3,2:7,3)	<0,0001

Dados expressos em média ± desvio padrão ou mediana (mínima:máxima). Abreviaturas: Id-Atv: Idoso Ativo; Id-Inat: Idoso Inativo; Jo-Atv: Jovem Ativo; Jo-Inat: Jovem Inativo; HDL: high-density lipoprotein; CETP: proteína de transferência de colesterol esterificado; LCAT: lecitina-colesterol aciltransferase; CE: colesterol esterificado; CL: colesterol livre; <sup>a</sup> – Id-Atv vs. Jo-Atv: p<0,001; <sup>b</sup> – Id-Atv vs. Jo-Inat: <0,01; <sup>c</sup> – Id-Atv vs. Jo-Inat: <0,001; <sup>d</sup> – Jo-Atv vs. Jo-Inat: <0,05; <sup>e</sup> – Id-Atv vs. Id-Inat: <0,01.

**Tabela 5** – Atividade da paraoxonase 1 e atividade antioxidante da HDL dos grupos estudados

<b>Parâmetros</b>	<b>Id-Atv</b> (n=25)	<b>Id-Inat</b> (n=21)	<b>Jo-Atv</b> (n=40)	<b>Jo-Inat</b> (n=25)	<b>p</b>
Atividade da PON1 (U/L)	72 (16:143)	46 (11:185)	66 (18:194)	68 (10:173)	0,4198
Vmax (milli-units/min)	7,6 (6,8:8,3)	7,6 (6,6:8,2)	7,6 (6,6:8,1)	7,5 (7,0:8,2)	0,8881
Tmax (min)	203 (190:238)	205 (175:243)	207 (180:228)	210 (193:243)	0,1878
DOMáx.	2,8 (2,4:2,9)	2,8 (2,3:2,9)	2,8 (2,3:2,9)	2,8 (2,4:2,9)	0,9882
AUC	589 (501:617)	584 (495:621)	591 (497:630)	586 (496:620)	0,8556

Dados expressos em mediana (mínima:máxima). Abreviaturas: Id-Atv: Idoso Ativo; Id-Inat: Idoso Inativo; Jo-Atv: Jovem Ativo; Jo-Inat: Jovem Inativo; HDL: high-density lipoprotein; PON1: paraoxonase 1; Vmax: taxa máxima de peroxidação lipídica; Tmax: tempo para a produção máxima de dienos conjugados; DOMax: produção máxima de dienos conjugados; AUC: área sobre a curva gerada.

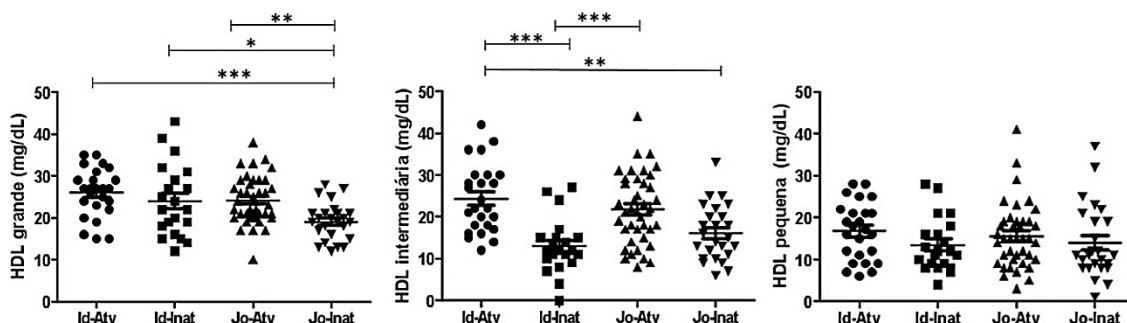
As subfrações de HDL intermediárias se correlacionaram positivamente com o HDL-C ( $r=0,7077$ ;  $p<0,0001$ ), com a apo A-I ( $r=0,5046$ ,  $p<0,0001$ ), com as transferências de CL ( $r=0,4545$ ;  $p<0,0001$ ) e CE ( $r=0,3701$ ;  $p<0,0001$ ) para a HDL e com as subfrações de HDL grandes ( $r=0,4441$ ;  $p<0,0001$ ). As subfrações de HDL intermediárias se correlacionaram negativamente com as concentrações de TG ( $r=-0,2549$ ;  $p=0,0069$ ).

As subfrações de HDL grandes se correlacionaram positivamente com o colesterol total ( $r=0,3523$ ;  $p=0,0001$ ), HDL-C ( $r=0,8088$ ;  $p<0,0001$ ), com a apo A-I ( $r=0,7900$ ;  $p<0,0001$ ) e com as transferências de CL ( $r=0,3923$ ;  $p<0,0001$ ) e CE ( $r=0,4250$ ;  $p<0,0001$ ) para a HDL. Sem haver associações negativas.

As transferências de CE pra a HDL se associaram positivamente com o colesterol total ( $r=0,4888$ ;  $p<0,0001$ ), LDL-C ( $r=0,2898$ ,  $p=0,0020$ ), HDL-C ( $r=0,4473$ ;  $p<0,0001$ ), Não HDL-C ( $r=0,3224$ ;  $p=0,0006$ ), com os TG ( $r=0,2726$ ;  $p=0,0038$ ), com a apo A-I ( $p=0,6481$ ;  $p<0,0001$ ), com a apo B ( $r=0,3150$ ;  $p=0,0008$ ) e com as transferências de CL ( $r=0,8730$ ;  $p<0,0001$ ) para a HDL. As transferências de CE para a HDL se correlacionaram negativamente com o VO<sub>2</sub>pico ( $r=-0,1910$ ;  $p=0,0457$ ).

As transferências de CL para a HDL se associaram positivamente com o colesterol total ( $r=0,3178$ ;  $p=0,0007$ ), HDL-C ( $r=0,5249$ ;  $p<0,0001$ ), com os TG ( $r=0,1982$ ;  $p=0,0370$ ) e com a apo A-I ( $r=0,6351$ ;  $p<0,0001$ ). Sem haver correlações negativas.

**Figura 4.** Distribuição das subfrações de HDL dos grupos estudados



Abreviações: HDL: high-density lipoprotein; Id-Atv: idoso ativo; Id-Inat: idoso inativo; Jo-Atv; jovem ativo; Jo-Inat: jovem inativo; \*:  $p<0,05$ ; \*\*:  $p<0,01$ ; \*\*\*:  $p<0,001$

O VO<sub>2</sub>pico não teve correlações positivas. As correlações negativas foram com o colesterol total ( $r=-0,2567$ ,  $p=0,0068$ ), com o Não HDL-C ( $r=-0,2638$ ;  $p=0,0054$ ), com os TG ( $r=-0,3596$ ;  $p=0,0001$ ) e com a apo B ( $r=-0,2433$ ;  $p=0,0104$ ).

**Tabela 6.** Correlação com os dados agrupados da amostra estudada

Correlações		IMC	LCAT	CETP	PON1	Diâmetro da HDL	HDL pequena	HDL interm.	HDL grande	Transf. de CE	Transf. de CL	VO <sub>2</sub> pico
Colesterol total	r	0,0879	<b>0,3634</b>	0,1007	0,1206	-0,0032	<b>0,2158</b>	0,1567	<b>0,3523</b>	<b>0,4888</b>	<b>0,3178</b>	<b>-0,2567</b>
	p	0,3586	<b>0,0001</b>	0,2928	0,2073	0,9727	<b>0,0230</b>	0,1006	<b>0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,0007</b>	<b>0,0068</b>
LDL-C	r	0,1702	<b>0,3168</b>	0,0673	0,0550	-0,0736	0,0575	-0,0854	0,1043	<b>0,2898</b>	0,0948	-0,1828
	p	0,0741	<b>0,0010</b>	0,4823	0,5662	0,4427	0,5489	0,3727	0,2760	<b>0,0020</b>	0,3223	0,0560
HDL-C	r	<b>-0,2640</b>	0,1505	-0,0009	0,1314	<b>0,2119</b>	<b>0,5663</b>	<b>0,7077</b>	<b>0,8088</b>	<b>0,4473</b>	<b>0,5249</b>	-0,0064
	p	<b>0,0051</b>	0,1253	0,9924	0,1691	<b>0,0256</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	0,9463
Não HDL-C	r	<b>0,2299</b>	<b>0,3428</b>	0,0981	0,0693	-0,0831	0,0023	-0,1418	0,0237	<b>0,3224</b>	0,1147	<b>-0,2638</b>
	p	<b>0,0152</b>	<b>0,0003</b>	0,3053	0,4695	0,3859	0,9808	0,1376	0,8042	<b>0,0006</b>	0,2308	<b>0,0054</b>
Triglicérides	r	<b>0,2686</b>	<b>0,3369</b>	0,1610	-0,0048	-0,1115	<b>-0,2000</b>	<b>-0,2549</b>	-0,1844	<b>0,2726</b>	<b>0,1982</b>	<b>-0,3596</b>
	p	<b>0,0044</b>	<b>0,0004</b>	0,0913	0,9596	0,2440	<b>0,0353</b>	<b>0,0069</b>	0,0526	<b>0,0038</b>	<b>0,0370</b>	<b>0,0001</b>
Apo A-I	r	-0,1833	<b>0,2131</b>	0,0032	0,1075	<b>0,2126</b>	<b>0,5046</b>	<b>0,5760</b>	<b>0,7900</b>	<b>0,6481</b>	<b>0,6351</b>	-0,1827
	p	0,0553	<b>0,0290</b>	0,9735	0,2635	<b>0,0258</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	0,0561
Apo B	r	<b>0,2072</b>	<b>0,3586</b>	0,1453	0,0440	-0,0868	-0,0367	-0,1290	-0,0217	<b>0,3150</b>	0,1286	<b>-0,2433</b>
	p	<b>0,0299</b>	<b>0,0001</b>	0,1298	0,6481	0,3669	0,7030	0,1792	0,8212	<b>0,0008</b>	0,1807	<b>0,0104</b>
VO <sub>2</sub> pico	r	<b>-0,3026</b>	<b>-0,2048</b>	<b>-0,2455</b>	-0,0785	0,0001	0,0305	0,0463	-0,1083	<b>-0,1910</b>	-0,0542	-
	p	<b>0,0013</b>	<b>0,0361</b>	<b>0,0097</b>	0,4145	0,9991	0,7513	0,6304	0,2599	<b>0,0457</b>	0,5735	-
Transf. de CL	r	-0,0889	<b>0,4381</b>	<b>0,2880</b>	0,1622	<b>0,3436</b>	<b>0,2496</b>	<b>0,4545</b>	<b>0,3923</b>	<b>0,8730</b>	-	-
	p	0,3531	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,0022</b>	0,0890	<b>0,0002</b>	<b>0,0082</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	-	-
Transf. de CE	r	0,0833	<b>0,3972</b>	<b>0,2795</b>	<b>0,1917</b>	<b>0,3848</b>	0,1514	<b>0,3701</b>	<b>0,4250</b>	-	-	-
	p	0,3843	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,0030</b>	<b>0,0438</b>	<b>&lt;0,0001</b>	0,1126	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	-	-	-
HDL grande	r	-0,1301	0,0585	-0,0518	0,0879	0,1458	<b>0,2986</b>	<b>0,4441</b>	-	-	-	-
	p	0,1735	0,5529	0,5890	0,3588	0,1269	<b>0,0015</b>	<b>&lt;0,0001</b>	-	-	-	-
HDL interm	r	<b>-0,1895</b>	<b>0,2248</b>	0,1716	0,0593	0,0757	-0,0053	-	-	-	-	-
	p	<b>0,0464</b>	<b>0,0211</b>	0,0718	0,5358	0,4295	0,9559	-	-	-	-	-
HDL pequena	r	-0,1816	0,0141	-0,1169	0,1555	<b>0,1924</b>	-	-	-	-	-	-
	p	0,0565	0,8859	0,2217	0,1032	<b>0,0431</b>	-	-	-	-	-	-
Diâmetro da HDL	r	-0,0138	0,1246	-0,0725	0,0772	-	-	-	-	-	-	-
	p	0,8855	0,2055	0,4495	0,4203	-	-	-	-	-	-	-
PON1	r	0,1099	0,0649	-0,0987	-	-	-	-	-	-	-	-
	p	0,2507	0,5102	0,3023	-	-	-	-	-	-	-	-
CETP	r	0,1147	<b>0,3216</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	p	0,2306	<b>0,0008</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LCAT	r	-0,0295	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	p	0,7645	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Abreviação: IMC: índice de massa corporal; LCAT: lecitina-colesterol aciltransferase; CETP: proteína de transferência de éter de colesterol; PON1: paraoxonase 1; HDL: high-density lipoprotein; CE: colesterol esterificado; CL: colesterol livre; VO<sub>2</sub>: consumo de oxigênio; LDL-C: colesterol da lipoproteína de baixa densidade.

## 5 Discussão

Neste estudo a prática de exercício físico pelos idosos resultou em benefícios consistentes nos parâmetros associados à HDL. Observamos que o HDL-C e a subfração de HDL intermediária foram maiores nos Id-Atv do que no grupo Id-Inat, enquanto o HDL-C e as subfrações grandes de HDL foram maiores nos Jo-Atv em comparação aos Jo-Inat. O aumento do HDL-C proporcionado pela prática de exercício físico é uma observação clássica na literatura, que pode ser notada em todas as idades (COUILLARD et al., 2001; DA SILVA et al., 2019; SUNAMI et al., 1999). Não foram encontrados valores mais baixos de TG nos grupos Id-Atv e Jo-Atv em comparação, respectivamente, aos grupos Id-Inat e Jo-Inat. Tampouco os grupos de indivíduos fisicamente ativos (Id-Atv e Jo-At) apresentaram valores menores dos marcadores das lipoproteínas que contém apo B, quais sejam LDL-C e apo B.

No que diz respeito as subfrações da HDL, os dados da literatura sugerem que as subfrações pequenas são menos protetoras contra a aterosclerose, em comparação as subfrações grandes (ZHANG et al., 2016). No que tange ao exercício físico, foi visto que a prática pode alterar a distribuição das subfrações em mulheres obesas, diminuindo as pequenas, sem alterar, estatisticamente, as intermediárias e as grandes (WOUDBERG et al., 2018). Nossos achados de que as subfrações de HDL intermediárias estão maiores nos Id-Atv do que nos Id-Inat, podem significar proteção contra aterosclerose. As subfrações de HDL grandes foram maiores nos Jo-Atv do que nos Jo-Inat confirmam os benefícios da prática de exercício físico nos indivíduos jovens.

No presente estudo não foram observadas diferenças na atividade da PON1 entre os quatro grupos de estudo. Em estudo prévio do nosso laboratório mostrou-se aumento da atividade da PON1 após doze semanas de exercício físico, mas essa observação foi feita em indivíduos com diagnóstico de síndrome metabólica (CASELLA-FILHO et al., 2011). As quatro variáveis de função antioxidante da HDL também não diferiram entre os grupos de estudo, sugerindo, junto com os resultados de atividade da PON1, que o exercício físico não impacte a atividade antioxidante da HDL, o que também foi achado em outro estudo (BRITES et al. 2006).

Nos Id-Atv, as transferências de CL foram maiores do que nos Id-Inat, apesar dos valores de transferência de CE estarem similares entre os grupos. Em cinco estudos prévios as menores transferências de CL para a HDL foram associadas com a doença aterosclerótica manifesta. Na DAC precoce (<50 anos), as transferências de CL estavam menores nos pacientes do que nos controles (MARANHÃO et al., 2012). Em idosos, as transferências de CL para a HDL naqueles que tinham DAC foram menores do que naqueles sem a doença (AZEVEDO et al., 2011). Em pacientes com diabetes tipo 2 com idade de  $63 \pm 9$  anos, àqueles com DAC, além do diabetes, tinham as taxas de transferências de CL menores do que àqueles sem a DAC, com apenas o diabetes (SPRANDEL et al., 2015). Interessante notar que as transferências de CL para a HDL estão prejudicadas, quanto maior for o acometimento em território vascular da aterosclerose. Isto foi confirmado em pacientes com DAC e AVE, que tinham as taxas de transferências de CL para a HDL menores do que os pacientes com apenas DAC (BARBOSA et al., 2019). Além disso, as menores transferências de CL foram observadas em pacientes com DAP, em comparação aos controles sem a doença (RIBEIRO et al., 2021). Portanto, as maiores taxas de transferência de CL para a HDL encontradas nos grupos de Id-Atv e Jo-Atv sugerem que a prática de exercício físico favorece mecanismos que protegem contra a aterosclerose.

A fração HDL é o principal sítio de captação para esterificação do colesterol no plasma. Nesse processo, que é fundamental para a homeostase do colesterol, o CL de outras frações de lipoproteínas, as que contém apo B e das células dos tecidos periféricos, são transferidas para a HDL. Na HDL, o colesterol é esterificado pela LCAT, que está associada a fração HDL, usando a apo A-I, a principal apo da HDL, como cofator (GLOMSET, 1968). Em estudos prévios, foi observado que em pacientes com DAC, a remoção de CL do plasma está aumentada (SANTOS et al., 2005), sugerindo que esse lípido pode dissociar da partícula e de maneira independente, precipitar na parede da artéria (COUTO et al., 2007). Esses achados destacam a importância do CL na fração HDL que funciona como um instrumento de esterificação de colesterol. Portanto, os achados desse estudo referente as maiores transferências de CL nos Id-Atv do que nos Id-Inat e nos Jo-Atv do que nos Jo-Inat sugerem que o exercício físico



tem ação protetora contra aterosclerose. Portanto, ao transferir CL das outras classes de lipoproteínas para a HDL em que o CL é esterificado e armazenado no núcleo da HDL, a dissociação do CL das lipoproteínas não-HDL e o depósito na parede das artérias são evitadas.

Em outros estudos, as maiores transferências de CL para a HDL foram observadas em indivíduos que praticam exercício físico em comparação aos seus controles sedentários, como em maratonistas (VAISBERG et al., 2012) e em mulheres idosas (BACHI et al., 2015). As transferências de CL estão aumentadas em pacientes com síndrome metabólica depois de serem submetidos a um programa de exercício físico, apesar de não haver aumento no HDL-C (CASELLA-FILHO et al., 2011). Em alguns estudos, as maiores transferências de CE para a HDL são observadas em indivíduos treinados. Nos nossos dados, as transferências de CE para a HDL foram maiores nos Jo-Atv em comparação aos Jo-Inat, mas entre os Id-Atv e os Id-Inat as transferências não foram diferentes. Se as transferências de CE para a HDL podem ser consideradas benéficas, é difícil de estabelecer a partir do ponto de vistas dos resultados previamente citados.

Enquanto este trabalho não encontrou correlações entre as transferências de CL para a HDL e as variáveis LDL-C e não HDL-C, um estudo do nosso grupo demonstrou que as transferências de CL para a HDL se correlacionaram positivamente com as concentrações do LDL-C e do não HDL-C (DA SILVA et al., 2019). No que diz respeito as transferências de CE para a HDL, houve associação positiva com o LDL-C, enquanto, em outro trabalho essa correlação foi negativa. Por outro lado, a associação negativa entre as transferências de CE para a HDL e o  $VO_2$ pico foram observadas neste trabalho e em resultados anteriormente publicados (DA SILVA et al., 2019). Apesar disso, este dado não corrobora com os achados aqui demonstrados, pois os Jo-Atv tem maior  $VO_2$ pico e as transferência de CE para a HDL estão aumentadas em comparação aos Jo-Inat.

No presente estudo, as concentrações de LCAT não foram influenciadas pela prática de exercício físico, em concordância aos dados anteriormente publicados (MARNIEMI et al., 1982; OLCRAWA et al., 2004). No tocante das concentrações de CETP, essa foi semelhante entre os Id-Atv e Id-Inat e entre os

Jo-Atv e Jo-Inat. Essa é uma questão digna de debate na literatura, pois há dados que mostram a diminuição (SEIP et al., 1993) das concentrações de CETP promovida pelo exercício físico e outros não (OLCHAWA et al., 2004).

Conforme esperado a partir de estudos anteriores, o exercício físico não altera as concentrações de LDL-C e apo B. Entretanto, isso não implica que o exercício físico não impacta no metabolismo das lipoproteínas que contém apo B. Em atletas, a remoção de uma nanopartícula semelhante a LDL da corrente sanguínea foi maior em comparação aos indivíduos sedentários, apesar do LDL-C estar igual entre os grupos, o que sugere que a síntese de colesterol também está aumentada nos atletas, entretanto, esses indivíduos tem maior capacidade de remover o LDL da circulação (VINAGRE et al., 2007). Encurtar o tempo de exposição do LDL no plasma pode expor a lipoproteína a um menor nível de peroxidação e outros processos que modificam a LDL e que conduzem a vias catabólicas pró-aterogênicas (RUSSELL, 1999).

O  $VO_2$  pico estava menor nos Id-Atv e nos Id-Inat em comparação aos Jo-Atv e os Jo-Inat, respectivamente. A redução progressiva do  $VO_2$  com a idade está bem estabelecida na literatura e pode ser explicada pelas alterações bioquímicas e funcionais no sistema cardiovascular decorrentes do envelhecimento (FLEG; STRAIT, 2012). O impacto do envelhecimento nas alterações hemodinâmicas parece ter maior participação na queda do  $VO_2$  do que a condição musculoesquelética e a capacidade mitocondrial (ZHANG et al., 2021).

Por outro lado, a prática de exercício físico aumenta o  $VO_2$  pico, e isso foi visto nos Id-Atv e nos Jo-Atv em comparação aos Jo-Inat e aos Ido-Inat, refletindo a efetividade da prática. A queda do  $VO_2$  relacionada com a idade, que ocorreu também em nosso estudo tanto no grupo Id-Atv quanto no Id-Inat pode ser atribuída, além dos fatores expostos acima, à diminuição da intensidade da atividade física que ocorre na maioria dos idosos. Além disso, a intensidade do exercício físico praticado diminui com a idade, conseqüentemente, diminuindo as adaptações da prática que são responsáveis pelo aumento ou manutenção do  $VO_2$  (BURTSCHER et al., 2022).

## 6 Conclusão

Nos idosos praticantes de exercício físico as transferências de CL e as subfrações de HDL intermediárias e o próprio HDL-C foram maiores comparados aos idosos inativos, caracterizando efeito benéfico do exercício sobre metabolismo da HDL.

Nos jovens praticantes de exercício físico, as transferências de CE e CL e as subfrações grandes de HDL, bem como o HDL-C a apo A-I, foram maiores comparados aos jovens inativos, espelhando o efeito benéfico do exercício sobre o metabolismo da HDL também nessa faixa etária.

Apesar de terem o  $VO_2$  pico menor, os indivíduos idosos que praticam exercício apresentaram parâmetros do metabolismo da HDL semelhantes aos dos jovens que praticam exercício, o que reforça a importância do treinamento realizado em idosos para melhorar a função anti-aterogênica da HDL.

Por fim, tanto em jovens quanto em idosos, a prática do exercício não afetou os parâmetros das lipoproteínas que contém apo B como LDL-C e não-HDL-C, TG e apo B. A concentração da LCAT, CETP, a atividade da PON1 e a atividade anti-oxidante da HDL também não apresentaram diferenças entre os grupos de estudo.

## 7 Referências bibliográficas:

AGACHAN, B. et al. Paraoxonase 55 and 192 polymorphism and its relationship to serum paraoxonase activity and serum lipids in Turkish patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. **Cell Biochemistry and Function**, v. 22, n. 3, p. 163–168, 2004.

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**, v. 66, n. 9, p. 1543–1548, 2011.

BABA, R. et al. Oxygen uptake efficiency slope: A new index of cardiorespiratory functional reserve derived from the relation between oxygen uptake and minute ventilation during incremental exercise. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 28, n. 6, p. 1567–1572, 1996.

BACHI, A. L. et al. Exercise Training Improves Plasma Lipid Inflammatory Profiles and Increases Cholesterol Transfer to High-Density Lipoprotein in Elderly Women. **J Am Geriatric Soc**, v. 63, n. 6, p. 1247–1249, 2015.

BALLANTYNE, C. M. *Clinical Lipidology: a companion to Braunwald's heart disease*. v. 1st ed. 2009.

BALLANTYNE, F. C. et al. High density and low-density lipoprotein subfractions in survivors of myocardial infarction and in control subjects. **Metabolism**, v. 31, n. 5, p. 433–437, 1982.

BALLING, M. et al. VLDL Cholesterol Accounts for One-Half of the Risk of Myocardial Infarction Associated With apoB-Containing Lipoproteins. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 76, n. 23, p. 2725–2735, 2020.

BARBOSA, C. J. D. G. et al. Lipid transfer to high-density lipoproteins in coronary artery disease patients with and without previous cerebrovascular ischemic events. **Clinical Cardiology**, v. 42, n. 11, p. 1100–1105, 2019.

BARTER, P. et al. Effects of Torcetrapib in Patients at High Risk for Coronary Events. **New England Journal of Medicine**, v. 357, n. 21, p. 2109–22, 2007.

BARTER, P. J.; RYE, K. A. Cholesteryl ester transfer protein inhibition as a strategy to reduce cardiovascular risk. **Journal of Lipid Research**, v. 53, n. 9, p. 1755–1766, 2012.

BERENSON, G. S. et al. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. **New England Journal of Medicine**, v. 338, p. 1650–6, 1998.

BERGLUND, I. et al. The Long-term Effect of Different Exercise Intensities on High-Density Lipoprotein Cholesterol in Older Men and Women Using the Per Protocol Approach: The Generation 100 Study. **Mayo Clinic Proceedings: Innovations, Quality & Outcomes**, v. 5, n. 5, p. 859–871, 2021.

BRENEMAN, C. B. et al. The Impact of Cardiorespiratory Fitness Levels on the Risk of Developing Atherogenic Dyslipidemia. **American Journal of Medicine**, v. 129, n. 10, p. 1060–1066, 2016.

BREWER, H. B. et al. The amino acid sequence of human ApoA-I, an apolipoprotein isolated from high density lipoproteins. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 80, n. 3, p. 623–630, 1978.

BRITES, F. et al. HDL capacity to inhibit LDL oxidation in well-trained triathletes. **Life Sci**, v 78, n. 26, p. 3074-3081.

BULL, F. C. et al. World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour. **British Journal of Sports Medicine** BMJ Publishing Group, 1 dez. 2020.

BURTSCHER, J. et al. The Impact of Training on the Loss of Cardiorespiratory Fitness in Aging Masters Endurance Athletes. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 17, p. 11050, 3 set. 2022.

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, 2011a.

CAVIGIOLIO, G. et al. Exchange of apolipoprotein A-I between lipid-associated and lipid-free states: A potential target for oxidative generation of dysfunctional high-density lipoproteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 24, p. 18847–18857, 2010.

CERVELLATI, C. et al. Paraonase-1 activities in individuals with different HDL circulating levels: Implication in reverse cholesterol transport and early vascular damage. **Atherosclerosis**, v. 285, p. 64–70, 1 jun. 2019.

COUILLARD, C. et al. Effects of endurance exercise training on plasma HDL cholesterol levels depend on levels of triglycerides: Evidence from men of the Health, Risk Factors, Exercise Training and Genetics (HERITAGE) Family Study. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 21, n. 7, p. 1226–1232, 2001.

COUTO, R. D. et al. Deposition of free cholesterol in the blood vessels of patients with coronary artery disease: A possible novel mechanism for atherogenesis. **Lipids**, v. 42, n. 5, p. 411–418, 2007.

CULLINANE, E. et al. Acute Decrease in Serum Triglycerides With Exercise: Is There a Threshold for an Exercise Effect? **Metabolism**, v. 31, n. 8, p. 844–847, 1982.

DA SILVA, J. L. et al. Aerobic Training in Young Men Increases the Transfer of Cholesterol to High Density Lipoprotein In Vitro: Impact of High Density Lipoprotein Size. **Lipids**, v. 54, n. 6–7, p. 381–388, 2019.

DE OLIVEIRA, W. P. C. et al. Lipid transfers to HDL are diminished in long-term bedridden patients: association with low HDL-cholesterol and increased inflammatory markers. **Lipids**, v. 52, n. 8, p. 703–709, 2017.

DETRANO, R.; GIANROSSI, R.; FROELICHER, V. The Diagnostic Accuracy of the Exercise Electrocardiogram: A Meta-Analysis of 22 Years of Research. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 32, n. 3, p. 173–206, 1989.

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

FALUDI, A. A. et al. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose - 2017. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 109, n. 1, p. 76, 2017.

FERRARA, A; BARRETT-CONNOR, E; SHAN, J. Total, LDL, and HDL Cholesterol Decrease With Age in Older Men and Women: The Rancho Bernardo Study 1984-1994. **Circulation**, v. 96, n. 1. p. 37-43, 1997.

FLEG, J. L.; STRAIT, J. Age-associated changes in cardiovascular structure and function: A fertile milieu for future disease. **Heart Failure Reviews**, v. 17, n. 4–5, p. 545–554, 2012.

FRANCESCHINI, G. Epidemiologic evidence for high-density lipoprotein cholesterol as a risk factor for coronary artery disease. **American Journal of Cardiology**, v. 88, n. 12 SUPPL., p. 9–13, 2001.

FRIEDEWALD, W.; LEVY, R.; FREDRICKSON, D. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499–502, 1972.

FURTADO, J. D. et al. Pharmacological Inhibition of CETP (Cholesteryl Ester Transfer Protein) Increases HDL (High-Density Lipoprotein) That Contains ApoC3 and Other HDL Subspecies Associated With Higher Risk of Coronary Heart Disease. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 42, n. 2, p. 227–237, 2022.

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, 1982.

GLOMSET, J. A. The plasma lecithins:cholesterol acyltransferase reaction. **Journal of Lipid Research**, v. 9, n. 2, p. 155–167, 1968.

GORDON, T. et al. High-density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham study. **The American Journal of Medicine**, v. 62, n. 5, p. 707–714, 1977.

HALLAL, P. C. et al. Lessons learned after 10 years of IPAQ use in Brazil and Colombia. **Journal of Physical Activity and Health**, v. 7, n. SUPPL.2, p. 259–264, 2010.

HIRATA, A. et al. Association of extremely high levels of high-density lipoprotein cholesterol with cardiovascular mortality in a pooled analysis of 9 cohort studies including 43,407 individuals: The EPOCH–JAPAN study. **Journal of Clinical Lipidology**, v. 12, n. 3, p. 674–684.e5, 2018.

HOLZER, M. et al. Aging affects high-density lipoprotein composition and function. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1831, n. 9, p. 1442–1448, 2013.

HONG, Y. M. Atherosclerotic cardiovascular disease beginning in childhood. **Korean Circulation Journal**, v. 40, n. 1, p. 1–9, 2010.

KANNEL, W. B. et al. Factors of risk in the development of coronary heart disease-six year follow-up experience. The Framingham Study. **Annals of internal medicine**, v. 55, p. 33–50, 1961.

KHERA, A. V. et al. Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis. **New England Journal of Medicine**, v. 364, n. 2, p. 127–135, 2011a.

KODAMA, S. et al. Cardiorespiratory Fitness as a Quantitative Predictor of All-Cause Mortality and Cardiovascular Events in Healthy Men and Women. **Journal of American Medical Association**, v. 301, n. 19, p. 2024–2035, 2009.

KOKKINOS, P. F. et al. Miles Run per Week and High-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in Healthy, Middle-aged Men. **Arch Intern Med**, v. 155, p. 415–420, 1995.

KONTUSH, A. HDL-mediated mechanisms of protection in cardiovascular disease. **Cardiovascular Research**, v. 103, n. 3, p. 341–349, 2014.

KONTUSH, A.; LHOMME, M.; CHAPMAN, M. J. Thematic review series: High density lipoprotein structure, function, and metabolism: Unraveling the complexities of the HDL lipidome. **Journal of Lipid Research**, v. 54, n. 11, p. 2950–2963, 2013.

KRAMSCH, D. et al. Reduction of coronary atherosclerosis by moderate conditioning exercise in monkeys on an atherogenic diet. **New England Journal of Medicine**, v. 305, n. 25, p. 1483–89, 1981.

LANGLOIS, M. R. et al. Quantifying atherogenic lipoproteins: Current and future challenges in the era of personalized medicine and very low concentrations of ldl cholesterol. a consensus statement from EAS and EFLM. **Clinical Chemistry**, v. 64, n. 7, p. 1006–1033, 2018.

LAW, M. R.; WALD, N. J.; RUDNICKA, A. R. Quantifying effect of statins on low density lipoprotein cholesterol, ischaemic heart disease, and stroke: Systematic review and meta-analysis. **British Medical Journal**, v. 326, n. 7404, p. 1423–1427, 2003.

LIBBY, P. Mechanisms of acute coronary syndromes and their implications for therapy. **New England Journal of Medicine**, v. 368, n. 21, p. 2004–2013, 2013.

- LIBBY, P. The changing landscape of atherosclerosis. **Nature**, v. 592, n. 7855, p. 524–533, 2021.
- LIMA, E.; MARANHÃO, R. Rapid, Simple Laser-Light-Scattering Method for HDL Particle Sizing in Whole Plasma. **Clinical Chemistry**, v. 50, n. 6, p. 1082–1086, 2004.
- MACKNESS, B.; TURKIE, W.; MACKNESS, M. Paraoxonase-1 (PON1) promoter region polymorphisms, serum PON1 status and coronary heart disease. **Archives of Medical Science**, v. 9, n. 1, p. 8–13, 2013.
- MACKNESS, M. I. et al. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. **Atherosclerosis**, v. 104, n. 1–2, p. 129–135, 1993.
- MADSEN, C. M.; VARBO, A.; NORDESTGAARD, B. G. Extreme high high-density lipoprotein cholesterol is paradoxically associated with high mortality in men and women: Two prospective cohort studies. **European Heart Journal**, v. 38, n. 32, p. 2478–2486, 2017.
- MADSEN, E. et al. Coronary atheroma regression and plaque characteristics assessed by grayscale and radiofrequency intravascular ultrasound after aerobic exercise. **American Journal of Cardiology**, v. 114, n. 10, p. 1504–1511, 2014.
- 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, 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, 2012.
- MARANHÃO, R. C.; FREITAS, F. R. HDL Metabolism and Atheroprotection: Predictive Value of Lipid Transfers. In Gregory S. Makowski, editor: *Advances in Clinical Chemistry*, Vol. 65, Burlington: Academic Press, 2014, pp. 1-41.
- MARNIEMI, J. et al. Dependence of Serum Lipid and Lecithin: Cholesterol Acyltransferase Levels on Physical Training in Young Men. **Eur J Appl Physiol**, v. 49, p. 25–35, 1982.
- MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. *Fisiologia do Exercício - Nutrição, Energia e Desempenho Humano*. [s.l.: s.n.].
- MCGOWAN, M. P. There is no evidence for an increase in acute coronary syndromes after short-term abrupt discontinuation of statins in stable cardiac patients. **Circulation**, v. 110, n. 16, p. 2333–2335, 2004.
- MOTOYAMA, M. et al. The effect of long-term low intensity aerobic training and detraining on serum lipid and lipoprotein concentrations in elderly men and women. **Eur J Appl Physiol**, v. 70, p.126-131, 1995.



- MYERS, J. et al. A Reference Equation for Normal Standards for VO<sub>2</sub> Max: Analysis from the Fitness Registry and the Importance of Exercise National Database (FRIEND Registry). **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 60, n. 1, p. 21–29, 2017.
- OLCHAWA, B. et al. Physical fitness and reverse cholesterol transport. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 24, n. 6, p. 1087–1091, jun. 2004.
- OLIVEIRA, G. M. M. et al. Estatística Cardiovascular – Brasil 2021. **Arq Bras Cardiol**, v. 118, n. 1, p. 115-373.
- PARK, Y. M. M. et al. The effect of cardiorespiratory fitness on age-related lipids and lipoproteins. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 65, n. 19, p. 2091–2100, 2015.
- PARRA, E. S. et al. HDL size is more accurate than HDL cholesterol to predict carotid subclinical atherosclerosis in individuals classified as low cardiovascular risk. **PLoS ONE**, v. 9, n. 12, p. 1–12, 2014.
- RAMOS, P et al. Effect of temperature and phase transition on oxidation resistance of low-density lipoprotein. **J Lipid Res**, v. 36, n. 10, p. 2113-2128, 1995.
- RAO, P. K. et al. Proteomic characterization of high-density lipoprotein particles in patients with non-alcoholic fatty liver disease. **Clinical Proteomics**, v. 15, n. 1, p. 1–9, 2018.
- RIBEIRO, F. R. C. et al. Disturbances of the transfer of cholesterol to high-density lipoprotein (HDL) in patients with peripheral artery disease with or without type 2 diabetes mellitus. **Vascular Medicine (United Kingdom)**, v. 26, n. 6, p. 602–607, 2021.
- ROHATGI, A. et al. HDL cholesterol efflux capacity and incident cardiovascular events. **New England Journal of Medicine**, v. 371, n. 25, p. 2383–2393, 2014.
- RUSSELL, R. Atherosclerosis - An inflammatory disease. **New England Journal of Medicine**, v. 340, p. 115, 1999.
- RUSSO, A. et al. An intensive lifestyle intervention reduces circulating oxidised low-density lipoprotein and increases human paraoxonase activity in obese subjects. **Obesity Research and Clinical Practice**, v. 12, n. 1, p. 108–114, 2018.
- SABATINE, M. S. et al. Evolocumab and clinical outcomes in patients with cardiovascular disease. **New England Journal of Medicine**, v. 376, n. 18, p. 1713–1722, 2017.
- SABATINE, M. S. et al. Efficacy and safety of further lowering of low-density lipoprotein cholesterol in patients starting with very low levels: A meta-analysis. **JAMA Cardiology**, v. 3, n. 9, p. 823–828, 2018.

- SANTOS, R. D. et al. Plasma kinetics of free and esterified cholesterol in familial hypercholesterolemia: Effects of simvastatin. **Lipids**, v. 40, n. 7, p. 737–743, 2005.
- SEIP, R. L. et al. Exercise training decreases plasma cholesteryl ester transfer protein. **Arteriosclerosis and Thrombosis**, v. 13, n. 9, p. 1359–1367, 1993.
- SENTÍ, M. et al. Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 88, n. 11, p. 5422–5426, 2003.
- SKINNER, S.; MCLELLAN, T. The transition from aerobic to anaerobic metabolism. **Research Quarterly for Exercise and Sport**, 1980.
- SNIDERMAN, A. D. et al. Risk of premature cardiovascular disease vs the number of premature cardiovascular events. **JAMA Cardiology**, v. 1, n. 4, p. 492–494, 2016.
- SOARES, A. A. S. et al. Adverse interaction between HDL and the mass of myocardial infarction. **Atherosclerosis**, v. 281, p. 9–16, 2019.
- SPRANDEL, M. C. O. et al. Alterations in lipid transfers to HDL associated with the presence of coronary artery disease in patients with type 2 diabetes mellitus. **Cardiovascular Diabetology**, v. 14, n. 1, 14 ago. 2015.
- STARY, H. C. et al. A definition of advanced types of atherosclerosis lesions and a histological classification of atherosclerosis. **Circulation**, v. 5, n. 1, p. 1355–1374, 1995.
- SUNAMI, Y. et al. Effects of low-intensity aerobic training on the high-density lipoprotein cholesterol concentration in healthy elderly subjects. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 48, n. 8, p. 984–988, 1999.
- 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, 2012.
- VINAGRE, C. G. C. 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, 2007.
- VIRANI, S. S. et al. Heart Disease and Stroke Statistics - 2021 Update: A Report from the American Heart Association. **Circulation**, v. 143, n. 8, p.e254-e743.
- VOIGHT, B. F. et al. Plasma HDL cholesterol and risk of myocardial infarction: A mendelian randomization study. **The Lancet**, v. 380, n. 9841, p. 572–580, 2012.
- WHO. Waist Circumference and Waist-Hip Ratio: Report of a WHO Expert Consultation. World Health Organization. December, p. 8–11, 2008.
- WILLIAMS, P. Physical fitness and activity as separate heart disease risk factors: A meta-analysis. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 33, n. 5, p. 754–761, 2001.

WOUDBERG, N. J. et al. Exercise intervention alters HDL subclass distribution and function in obese women. **Lipids in Health and Disease**, v. 17, n. 1, p. 1–12, 2018.

YOSHIKAWA, D. et al. Association of cardiorespiratory fitness with characteristics of coronary plaque: Assessment using integrated backscatter intravascular ultrasound and optical coherence tomography. **International Journal of Cardiology**, v. 162, n. 2, p. 123–128, 2013.

ZHANG, H. et al. Continued statin prescriptions after adverse reactions and patient outcomes: A cohort study. **Annals of Internal Medicine**, v. 167, n. 4, p. 221–227, 2017.

ZHANG, X. et al. Preserved skeletal muscle oxidative capacity in older adults despite decreased cardiorespiratory fitness with ageing. **Journal of Physiology**, v. 599, n. 14, p. 3581–3592, 2021.

ZHANG, Y. et al. HDL subfractions and very early CAD: Novel findings from untreated patients in a Chinese cohort. **Scientific Reports**, v. 6, n. July, p. 1–8, 2016.