



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ

Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e
Medicina Investigativa

DISSERTAÇÃO

REMODELAMENTO DE PARTÍCULAS LIPOPROTÉICAS DE ALTA
DENSIDADE (HDL) E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE ENTRE PACIENTES
DIABÉTICOS E NÃO DIABÉTICOS COM DOENÇA ATEROSCLERÓTICA
CORONÁRIA

LEONOR FERNANDES TEIXEIRA AMARAL

Salvador – Bahia
2015

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

**Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e
Medicina Investigativa**

**REMODELAMENTO DE PARTÍCULAS LIPOPROTÉICAS DE ALTA
DENSIDADE (HDL) E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE ENTRE PACIENTES
DIABÉTICOS E NÃO DIABÉTICOS COM DOENÇA ATEROSCLERÓTICA
CORONÁRIA.**

LEONOR FERNANDES TEIXEIRA AMARAL

Orientador: Ricardo David Couto

Dissertação apresentada ao
Curso de Pós-Graduação em
Biotecnologia em Saúde e
Medicina Investigativa para a
obtenção do grau de Mestre

**Salvador – Bahia
2015**

“Não tentes ser bem sucedido, tenta antes ser um homem de valor”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade deste desafio tão engrandecedor para minha vida e por me proporcionar o exercício e desenvolvimento da perseverança e paciência.

Agradeço a minha família por me acompanhar nesta etapa.

Agradeço ao Professor Ricardo David pela atenção e motivação e por ser um orientador que prima por valores humanos.

Agradeço aos funcionários do laboratório do Hospital Ana Nery e da Faculdade de Farmácia, sem os quais não seria possível a continuidade deste projeto.

Agradeço a biblioteca da Fundação Gonçalo Moniz pelo apoio na finalização do projeto

Agradeço ao Professor Roque Aras que me apoiou a iniciar este projeto.

Agradeço ao Professor Maurício Schmall, meu Mestre na Vida, que com seu exemplo e ensinamentos despertou um outro olhar sobre o mundo e as pessoas.

Agradeço a meus filhos que em sua inocência sempre foram inspiração para mim.

AMARAL, Leonor Fernandes Teixeira. Remodelamento de partículas lipoprotéicas de alta densidade (HDL) e atividade antioxidante entre pacientes diabéticos e não diabéticos com doença aterosclerótica coronária. 51 f. il. Dissertação (Mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2015.

RESUMO

INTRODUÇÃO: as doenças cardiovasculares acometem milhares de pessoas no mundo, sendo a doença aterosclerótica a de maior morbimortalidade. Além disso, a aterosclerose pode manifestar-se precocemente dada a presença de dislipidemias, processos inflamatórios e alterações metabólicas como a diabetes. **OBJETIVO:** avaliar se existem diferenças no remodelamento da HDL e atividade antioxidante entre pacientes diabéticos e não diabéticos com doença aterosclerótica. Ainda, identificar, quantificar e estimar biomarcadores relacionados ao remodelamento de partículas lipoprotéicas e ao risco cardiovascular em função da concentração de colesterol na HDL, colesterol livre total, LDL-C, apoB, apoA-I, atividade da paraoxonase 1 (PON1), razões de risco como TG/HDL-C, LDL-C/ApoB, HDL-C/apoA-I, PON1/apoA-I, apoA-I/ApoB e tamanho estimado de partículas de HDL, LDL, glicemia, insulina e HbA1c. **MÉTODOS:** foram selecionados por conveniência 69 pacientes do sexo masculino, entre 18 e 75 anos, oriundos da enfermaria de cardiologia do Hospital Ana Neri, subdivididos em dois subgrupos: diabéticos e não diabéticos, ambos, com doença aterosclerótica coronária. Foram utilizadas metodologias enzimáticas, imunoturbidimétricas e nefelométricas nesse estudo. **RESULTADOS:** dos achados da comparação direta entre os grupos apenas a glicemia de jejum foi significativamente diferente (Teste t; $p < 0,05$). Embora não significante o valor do colesterol não esterificado (CL) foi, em média, quatro vezes maior nos diabéticos quando comparado aos não diabéticos. A análise de correlação linear mostrou achados importantes do ponto de vista fisiológico, como correlação positiva entre CL e HDL-C ($r = 0,617$; $p < 0,01083$) e razão apoA-I/apoB e insulina ($r = 0,489$; $p < 0,02095$) nos diabéticos, e correlação negativa entre PON1/apoA-I com CL ($r = -0,499$; $p < 0,0065$) e HDL-C com HbA1c ($r = -0,444$; $p < 0,0324$) nos pacientes não diabéticos. **CONCLUSÃO:** Os achados desse estudo mostram que o cálculo das razões utilizadas para a análise de risco cardiovascular foram importantes indicadores quando correlacionados com marcadores séricos sugestivos de risco cardiovascular na população masculina diabética deste estudo.

Palavras-chave: Diabetes; Lipoproteínas Aterogênicas; HDL; Aterosclerose Precoce.

AMARAL, Leonor Fernandes Teixeira. High-density lipoprotein (HDL) particle's remodeling and antioxidant activity between diabetic and non-diabetic patients with coronary artery disease. 51 f. il. Dissertação (Mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2015.

ABSTRACT

Introduction: cardiovascular diseases affect thousands of people around the world, and atherosclerotic disease is the one with the greatest morbidity and mortality. Furthermore, atherosclerosis may manifest early by the presence of dyslipidemia, inflammatory processes and metabolic disorders such as diabetes. **Objective:** to assess whether there are differences between HDL remodeling and antioxidant activity from diabetic and non-diabetic patients with coronary artery disease. Also, identify, quantify and evaluate biomarkers related to lipoprotein particles remodeling and cardiovascular risk depending on HDL cholesterol concentration, total free cholesterol, LDL-C, apoB, apoA-I, paraoxonase activity 1 (PON1), and risk ratios like TG/HDL-C, LDL-C/ApoB, HDL-C/apoA-I, PON1/apoA-I, apoA-I/ApoB, HDL and LDL estimated particles size, glucose, insulin and HbA1c. **Methods:** we selected by convenience 69 male patients between 18 and 75 years, from the Cardiology Unit of Hospital Ana Neri, they were subdivided into two groups: diabetic and non-diabetic patients, both with coronary atherosclerosis. In these study were used enzymatic, immunoturbidimetric and nephelometric methodologies. **Results:** From the findings of the direct comparison between groups only fasting glucose was significantly different (t test; $p < 0.05$). Although not significant, the value of non-esterified cholesterol (CL) was on average, four times higher in diabetics when compared to non-diabetics. Linear correlation analysis showed significant findings, from a physiological point of view, as positive correlation between CL and HDL-C ($r = 0.617$, $p < 0.01083$) and apoA-I ratio/apoB and insulin ($r = 0.489$, $p < 0.02095$) in diabetics, and negative correlation between PON1/apoA-I with CL ($r = -0.499$; $p < 0.0065$) and HDL-C with HbA1c ($r = -0.444$; $p < 0.0324$) in patients non-diabetic. **Conclusion:** the findings shows that the calculated ratio's used for cardiovascular risk analysis were important indicators when correlated to serum markers suggestive of cardiovascular risk in the study diabetic male population.

Keywords: Diabetes; Atherogenic Lipoproteins; HDL; Early Atherosclerosis.

LISTA DE ABREVIATURAS

apoA	apolipoproteína A
apoB	apolipoproteína B
CETP	proteína de transferência de éster de colesterol
CL	colesterol livre (não esterificado)
CT	colesterol total
DCV	doença cardiovascular
g/mL	gramas por mililitro
HDL	lipoproteína de densidade alta
HDL-C	colesterol da lipoproteína de densidade alta
IDL	lipoproteína de densidade intermediária
LCAT	lecitina-colesterol-acil transferase
LDL	lipoproteína de densidade baixa
LDL-C	colesterol da lipoproteína de densidade baixa
LDL-r	receptor de LDL
LPL	lipoproteína lipase
mg/dL	miligrama por decilitro
PL	fosfolípidos
PL- ¹⁴ C	fosfolípidos marcado com carbono 14
PLTP	proteína de transferência de fosfolípidos
Qm	quilomícron
TG	triglicerídeos
VLDL	lipoproteína de densidade muito baixa
VLDL-C	colesterol da lipoproteína de densidade muito baixa
U/L	unidade internacional por litro
HAS	hipertensão arterial sistêmica
LDLox	lipoproteína de baixa densidade oxidada
TRC	transporte reverso do colesterol
CL ³ H	colesterol livre marcado com trítio
CATE	cateterismo (cineangiocoronariografia)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Funções biológicas desempenhadas com a participação da lipoproteína de alta densidade (HDL) e seus constituintes

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Idade e características gerais dos pacientes.

Tabela 2 Comparações e dados dos marcadores e estimativas laboratoriais utilizados para avaliação do risco cardiovascular dos pacientes participantes do estudo.

Tabela 3 Matriz de correlação de Pearson (r;p) entre as variáveis analisadas no grupo de pacientes diabéticos.

Tabela 4 Matriz de correlação de Pearson (r;p) entre as variáveis analisadas no grupo de **pacientes não diabéticos**.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.1	DIABETES	10
1.2	DISLIPIDEMIA E DIABETES	11
1.3	ATEROSCLEROSE E FATOR DE RISCO CARDIOVASCULAR	12
1.4	MARCADORES SUGESTIVOS DE RISCO CARDIOVASCULAR E A TEROSCLEROSE: HDL-C, LDL-C, PARAOXANASE, APOA, APOB, COLESTEROL NÃO-HDL E TRIGLICÉRIDEOS	15
1.4.1	HDL	16
1.4.2	LDL	18
1.4.3	Paraoxanase e outros fatores de risco	19
1.4.4	Paraoxanase e diabetes	20
1.4.5	APOA-1	20
1.5	RAZÕES CALCULADAS A PARTIR DA CONCENTRAÇÃO DE BIOMARCADORES LABORATORIAIS UTILIZADAS PARA ESTIMAR RISCO DE DAC	20
2	JUSTIFICATIVA	22
3	OBJETIVOS	22
3.1	OBJETIVO GERAL	22
3.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	23
4	METODOLOGIA	23
4.1	CÁLCULO AMOSTRAL, CASUÍSTICO E DESENVOLVIMENTO	23
4.2	CRITÉRIOS E CONDIÇÕES DE ELEGIBILIDADE	24
4.2.1	Critérios de inclusão	24
4.2.2	Critérios de exclusão	24
4.2.3	Protocolo inicial de estudo	24
4.3	MATERIAIS UTILIZADOS	25
4.4	DETERMINAÇÕES LABORATORIAIS	25
4.5	ATIVIDADE DA PARAOXANASE	26
4.6	ESTIMATIVA DE RISCO CARDIOVASCULAR	26
5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	26
6	RESULTADOS	27
7	DISCUSSÃO	31
8	LIMITAÇÕES DO ESTUDO	34
9	CONCLUSÃO	34
10	REFERÊNCIAS	35
	ANEXOS	

1 INTRODUÇÃO

1.1 DIABETES

O diabetes é uma desordem metabólica caracterizada por concentrações elevadas de glicose na corrente sanguínea. Essa alteração metabólica conduz a uma série de reações que geram estresse oxidativo nos tecidos corpóreos, impactando especialmente em alterações na parede vascular arterial (KOREN-GLUZER et al., 2011). O resultado destas alterações é responsável por complicações vasculares identificadas nesta patologia que levam à aterosclerose. Esse processo é lento e insidioso, potencialmente capaz de finalizar em desfechos de grande morbimortalidade caracterizados pela presença de lesões micro ou macrovascular que podem impactar também no status hemodinâmico geral do paciente. Em geral o diabetes, com base no consenso da “Associação Americana de Diabetes (ADA)” está classificado como: diabetes mellitus tipo 1, quando a fisiopatologia está relacionada à destruição das células beta pancreáticas, levando a insuficiência completa de insulina; diabetes mellitus tipo 2, quando há resistência à insulina e posterior falência das células beta pancreáticas; diabetes gestacional e outros tipos específicos de diabetes que englobam entre outras, causas genéticas e medicamentosas (ADA, 2014).

O diabetes assume atualmente um cenário mundial preocupante, abrangendo 8,3% da população mundial e vem crescendo exponencialmente de tal forma que se estima que em 2035 cerca 55% da população mundial seja portadora de diabetes (IDF, 2014). No Brasil, em 1987 foi estimada a prevalência do diabetes em 7,6% da população (MALERBI et al., 1992). Atualmente ainda não dispomos de muitos estudos epidemiológicos, mas dados do Ministério da Saúde obtidos a partir de inquéritos da VIGITEL (Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico) demonstrou que a prevalência do diabetes auto referido cresceu significativamente entre 2006 e 2013 de 5,2% para 6,9%. Em 2013 5,1 milhões de pessoas morreram em consequência do diabetes no mundo. As doenças cardiovasculares compreendem 50% das mortes dos pacientes diabéticos (OMS, 2013). O fato de uma pessoa ter diabetes aumenta isoladamente o risco de ter infarto agudo do miocárdio (IAM) ou acidente vascular encefálico (AVC) em duas a quatro vezes (LAAKSO M. et al., 2001). Fatores associados ao diabetes como dislipidemia, obesidade, hipertensão arterial sistêmica são multiplicadores do risco de doença cardiovascular e estão intrinsicamente inter-relacionados do ponto de vista patológico formando uma grande rede de alterações

que alimentam e robustecem este risco. Os hábitos de vida adotados pela sociedade atual e o aumento da expectativa de vida contribuem de forma impactante na construção deste cenário (SVENSSON et al., 2014).

A consequência primordial das alterações metabólicas, multifatoriais, no paciente diabético é a hiperglicemia, que tem ação modificadora importante no endotélio vascular, palco das transformações estruturais responsáveis pelo evento cardiovascular. Embora se conheça muitas destas alterações, ainda há muito que se compreender neste processo complexo e dinâmico.

O UKPDS (The UK Prospective Diabetes Study), estudo feito no Reino Unido, com pacientes diabéticos tipo 2, mostrou aumento de mortalidade cardiovascular nestes pacientes. A ação da resistência à insulina contribui substancialmente nesta resultante. No Brasil e no mundo observa-se o aumento da prevalência de obesidade o que traz como problemática um grupo substantivo de indivíduos com Síndrome metabólica que tem como base fisiopatológica a resistência à insulina (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES 2014-2015). A síndrome metabólica é caracterizada por um conjunto de critérios que têm em comum indivíduos com aumento da circunferência abdominal e glicemia de jejum alterada. Estes indivíduos tem o risco de doença cardiovascular aumentado (SEMENKOVICH, 2014). Analisando a resistência à insulina surge então outro fator de risco importante para doença cardiovascular (DCV) e que está fortemente presente nos pacientes diabéticos, a dislipidemia (BERTOLUCI et al., 2010).

1.2 DISLIPIDEMIA E DIABETES

A dislipidemia é uma complicação frequente em pacientes diabéticos, em especial os pacientes com diabetes tipo 2, e é também uma das mais importantes precursoras da DCV nestes pacientes. Laboratorialmente ela é caracterizada por altas concentrações de triglicérides e baixas concentrações de HDL-C. O LDL-C na maioria destes pacientes encontra-se entre os valores ditos normais, entretanto, neste caso essas partículas lipoproteicas são menores e mais densas (LDL pequena e densa; LDLsd), fato que favorece sua oxidação e aumenta seu potencial aterogênico (LIMA e COUTO, 2006).

Este perfil lipídico característico dos pacientes com diabetes tipo 2 pode ser atribuído a resistência insulínica. A resistência insulínica promove alterações nas enzimas e proteínas

de transferência envolvidas tanto no metabolismo lipídico quanto no remodelamento das partículas lipoproteicas (BITZUR et al., 2009). Normalmente, estes pacientes possuem algum tipo de defeito pós-receptor de insulina apesar de produzirem insulina em níveis até maiores que o habitual. Entretanto nestes indivíduos existem alterações na sinalização intracelular da insulina e os mecanismos celulares não reconhecem a sua presença, fato este que está associado à hiperinsulinemia ineficiente (ADA, 2014). Nos pacientes com diabetes mellitus tipo 1, a fisiopatologia da doença é baseada na destruição das células beta pancreáticas e consequente deficiência ou mesmo ausência da produção de insulina. Em ambos os casos, o mecanismo é compreendido, em nível celular, como ausência de insulina. Na ausência da insulina, a lipase hormônio sensível (lipase adipocitária) tem sua atividade aumentada, o que proporciona aumento da lipólise, provendo o fígado de ácidos graxos livres que, associados à alta concentração de glicose plasmática, fornecem o substrato necessário para a formação das VLDL (LIMA e COUTO, 2006). A lipase lipoproteica (LPL), neste caso, estará com sua atividade reduzida levando ao acúmulo das partículas de VLDL ricas em triglicérides (TG), resultando em hipertrigliceridemia associada à redução de HDL-C. Além disso, a diminuição da atividade da LPL e aumento da atividade da LH também contribuem com o remodelamento da HDL, tornando-a menor. Ainda, alteração na proteína de transferência de ésteres de colesterol (CETP) tem impacto direto no desenvolvimento da dislipidemia diabética, pois é responsável pela transferência de ésteres de colesterol (CE) para lipoproteínas ricas em TG e também diminuição do tamanho da HDL (BOUILLET et al, 2014). A proteína responsável pela esterificação do colesterol livre (CL) e aumento da partícula de HDL, a Lecitina Colesterol Acil-transferase (LCAT), também tem sua atividade modificada nos pacientes diabéticos. O conjunto de todas estas alterações enzimáticas e de proteínas de transferência/esterificação observadas nos pacientes diabéticos resulta nas alterações do metabolismo lipídico e remodelamento de partículas lipoproteicas que são altamente aterogênicas (BOUILLET et al., 2014).

1.3 ATEROSCLEROSE E FATOR DE RISCO CARDIOVASCULAR

As doenças cardiovasculares são a primeira causa de morte no Brasil, dessas, a doença cardiovascular aterosclerótica é a principal responsável pelo índice de mortalidade por

causas cardiovasculares neste país (DATASUS, 2010; CORRÊA-CAMACHO et al., 2007; FERRAZ, 2008).

A aterosclerose é uma doença insidiosa e multifatorial resultante de processo inflamatório crônico que ocorre continuamente na camada íntima das artérias e progride para suas camadas mais internas. A lesão endotelial é dita como ponto de partida para a aterogênese, e resulta das interações de muitos fatores predisponentes originados de agressões mecânicas como a hipertensão arterial sistêmica, de agentes citotóxicos como os existentes no tabaco e a glicação proteica irreversível do diabetes, além das multifatoriais provocadas por dislipidemias, infecções virais e bacterianas (LUSIS, 2000). Embora a idade seja um fator de risco preponderante para o desenvolvimento da aterosclerose, já se tem estabelecido hoje que esta patologia não é um simples resultado do envelhecimento degenerativo das artérias, pois, também existem fatores e marcadores de risco genético-ambientais que tem importante influência para seu desenvolvimento (LIMA e COUTO, 2006).

A lesão endotelial provocada pelos diversos fatores citados resultará em aumento da permeabilidade (influxo) de lipoproteínas na camada íntima e retenção dessas partículas mais facilmente neste espaço, dessa forma as partículas de LDL são oxidadas e tornam-se citotóxicas (INTROCASO, 2001). Deflagra-se em seguida a ativação do sistema imunológico, onde se observa o aumento de moléculas de adesão leucocitária, recrutamento de monócitos e linfócitos. Os monócitos se diferenciam em macrófagos para fagocitar partículas de LDL oxidadas (modificadas), transformando-se quando turgidas em células espumosas. Estas células espumosas têm uma importante participação no processo aterosclerótico, pois secretam citocinas e enzimas proteolíticas que amplificam a resposta inflamatória e degradam o colágeno e outros componentes teciduais. Ocorre também a migração de células musculares lisas e produção da matriz extracelular (INTROCASO, 2001). Essas são algumas das etapas que levam a formação da capa fibrosa que evolui para a placa aterosclerótica. A placa desenvolvida é composta por elementos celulares, matriz extracelular e núcleo lipídico necrótico. Quando a atividade inflamatória permanece nestas placas acontece o rompimento desta capa fibrosa e formam-se as chamadas placas instáveis. O conteúdo lipídico dentro dessas placas se exposto é altamente trombogênico. O desenvolvimento da placa se dá ao longo de muitos

anos, sendo assim, para melhor compreensão a “American Heart Association” em 1990 classificou esse desenvolvimento em seis estágios:

Tipo I - As lesões iniciais não vistas macroscopicamente. Consistem em lesões com os primeiros depósitos de lipídeos microscópicos e quimicamente detectáveis na íntima, em conjunto com as reações celulares associadas a esses depósitos. As lesões do tipo I ou iniciais têm sido descritas em crianças e adolescentes (a partir da primeira década de vida), tais lesões passam a ocorrer em adultos, sobretudo naqueles com pouca aterosclerose ou em locais das artérias resistentes a lesões.

Tipo II - As lesões do tipo II incluem as estrias gordurosas e podem ser vistas macroscopicamente como estrias ou manchas amareladas na superfície da túnica íntima das artérias. As lesões do tipo II consistem, essencialmente, em grupos de células espumosas dispostas em camadas estratificadas adjacentes, em vez de apresentarem-se como grupos isolados de células. As células musculares lisas íntimas, assim como os macrófagos, também contém gotículas lipídicas.

Tipo III - São conhecidas como lesões intermediárias ou pré-ateroma. Histologicamente se caracterizam pela presença de acúmulo lipídico no meio extracelular.

Tipo IV - São chamadas de ateromas. Apresentam conteúdo denso e extracelular de lipídeos localizados de forma uniforme na camada íntima, que são conhecidos como núcleos lipídicos. Estas lesões tem crescimento excêntrico e além disso, espessam a parede arterial sem ocasionar estreitamento luminal.

Tipo V - Essas lesões se caracterizam pela formação de tecido conectivo fibroso que, quando associado ao núcleo lipídico, formam o fibroateroma. São subdivididas em a, b e c. Tais lesões podem provocar estreitamento luminal clinicamente importantes.

Alguns fatores podem acelerar, potencializar ou mesmo iniciar este processo, configurando no que chamamos de aterosclerose precoce. Aterosclerose precoce é definida como evento cardiovascular isquêmico que se manifesta clinicamente antes dos 65 anos nas mulheres e dos 55 anos nos homens. Doenças genéticas, doença renal crônica, dislipidemias familiares, doenças hepáticas e diabetes, estão entre as patologias determinantes no desenvolvimento da aterosclerose precoce. O diabetes mellitus, por ser uma doença cada vez mais prevalente na população, tem um papel significativo na

epidemiologia da aterosclerose precoce, assim como a prevenção e o tratamento adequado do diabetes pode impactar positivamente no curso desta doença.

1.4 MARCADORES SUGESTIVOS DE RISCO CARDIOVASCULAR E ATEROSCLEROSE: HDL-C, LDL-C, PARAOXONASE APOA, APOB, COLESTEROL NÃO HDL E TRIGLICÉRIDEOS

1.4.1 A HDL

A lipoproteína de alta densidade (HDL) é uma partícula lipoproteica basicamente constituída por apoproteínas, ésteres de colesterol, colesterol livre, fosfolipídios e triglicérides. A HDL participa de um mecanismo complexo e refinado com implicações fisiológicas extremamente importantes. Quando não funcional a HDL tornar-se o ponto de partida para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares ateroscleróticas.

Há evidências da associação inversa entre as concentrações de colesterol da HDL (HDL-C) e doença cardiovascular (SHEKHANAWAR et al., 2013), solidificadas por grandes estudos epidemiológicos como o estudo de Framingham que revelou o HDL-C como um fator/marcador de risco independente para doença cardiovascular (WILSON et al., 1988).

A HDL (partícula lipoproteica) tem meia vida de cerca de seis dias, é sintetizada no fígado e intestino (BACHORIK et al., 1999). Esta molécula é heterogênea e vai ganhando conformações e funcionalidades diferentes à medida que interage com outras lipoproteínas, membranas celulares, proteínas de transferência e enzimas. Quando lançada à circulação, a HDL, é inicialmente uma partícula instável chamada de HDL nascente. Na membrana celular sob ação da ABCA-1 (ATP-binding cassette transporter A1) passa por processo de lipidação em que fosfolipídios e colesterol são removidos de tecidos hepáticos e extra-hepáticos. Neste processo forma-se a HDL discoide, na medida em que colesterol e fosfolipídeos são removidos dos tecidos periféricos a ApoA-I ativa a enzima LCTA (lecitina colesterol acil-transferase) que é responsável por esterificar o colesterol livre removido (LIMA e COUTO, 2006). O éster de colesterol, produto da ação da LCTA, vai se concentrar no núcleo da HDL dando a ela uma forma esférica, quando

então é chamada de HDL3, partícula mais densa. Posteriormente a PLTP (proteína de transferência de fosfolipídio) incorpora fosfolipídios a HDL3, transformando-a em HDL2, menos densa (LEANÇA et al., 2010). Atua neste processo a CETP (proteína transportadora de éster de colesterol) que faz a redistribuição do éster de colesterol da HDL para outras lipoproteínas, ainda nesse processo de remodelamento da partícula de HDL, há a participação da Lipase hepática (LH) que hidrolisa os fosfolipídeos diminuindo assim o tamanho da HDL (BACHORIK et al., 1999, LIMA e COUTO, 2006). Na membrana celular e no plasma este é um processo dinâmico com interconversão entre HDL2 e HDL3. As HDL formadas são captadas no fígado pelos receptores de ApoE e SRB1, onde acontece a remoção seletiva dos ésteres de colesterol. A HDL remanescente pobre em lipídio é captada pelo fígado e a apoA é metabolizada preferencialmente nos rins (LEANÇA et al., 2010).

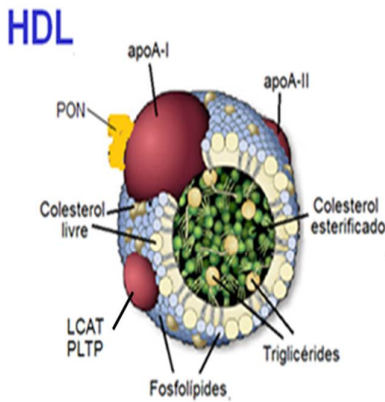
As concentrações de HDL sofrem influências multifatoriais, 50% é determinado por herança genética, o restante, em relação a concentração de colesterol na HDL (capacidade de remover colesterol dos tecidos e de outras lipoproteínas), é definida por hábitos alimentares, tabagismo, peso corporal, pratica de exercício físico e consumo de álcool (LEANÇA et al., 2010, LIMA e COUTO, 2006). A HDL é habitualmente evidenciada como grupo heterogêneo de partículas lipoproteicas, composta por subpopulações de partículas que variam em tamanho, composição e funcionalidade, propriedades essas que atribuem a esta partícula diversas funções biológicas (LEANÇA et al., 2010) (Figura 1).

Efluxo do colesterol

Ação anti-apoptótica

Efeito antitrombótico

Controle glicêmico



Efeito antiinflamatório

Ação antioxidante

Promotora da liberação de NO

Amplificadora de efeitos nas células endoteliais

Figura 1. Funções biológicas desempenhadas com a participação da lipoproteína de alta densidade (HDL) e seus constituintes. PON 1: paraoxonase 1; apoA-I: apolipoproteína A-I; apoAII: apolipoproteína A-II; LCAT: lecitina colesterol acil-transferase; PLTP: proteína de transferência de fosfolípidos; NO: Oxido nítrico.

Entre suas ações na proteção contra a aterosclerose destacam-se o transporte reverso de colesterol (TRC). Este modelo foi inicialmente descrito por Glomset (1999) que atribuía esta ação a LCTA. Entretanto este cenário mostrou-se complexo e rebuscado, pois, cada etapa desse processo tem importância indispensável (HELLERSTEIN et al., 2014). O TRC ocasiona o efluxo de colesterol dos tecidos periféricos e células como macrófagos de volta para o fígado. Este processo consiste na migração do CL presente no endotélio e sua incorporação a lipoproteínas plasmáticas, neste caso a HDL, em seguida o CL é convertido em éster de colesterol através da LCAT e que então retorna ao fígado pela via SRB1 ou se liga a receptores de LDL (LDL-r) e é eliminado juntamente com a bile nas fezes. Além do TRC, a HDL exerce ações antitrombóticas e antioxidantes no endotélio vascular, importantes para a proteção cardiovascular (MINEO et al., 2011). Além disso, em relação à peroxidação de lipídeos da LDL, situação que exacerba o risco cardiovascular, esse, é um dos pontos chave para medida de eficácia da ação antiaterosclerótica da HDL (SHE et al., 2012). Cumpre ressaltar que a HDL ativa o AMPK em células endoteliais, músculo esquelético e tecido adiposo. O AMPK é um sinalizador de captação de glicose independente de insulina (DREW et al., 2012), fato esse que facilita o influxo de glicose nos tecidos.

1.4.2. A LDL

A LDL tem papel crucial no processo aterosclerótico, uma vez que quando os lipídios da LDL são oxidados a partícula passa a ser citotóxica. A citotoxicidade destas partículas promovem a degeneração e a necrose de células endoteliais, além de afetar a expressão de genes chaves para o desempenho normal das funções dessas células. A LDL oxidada induz o endotélio a produzir substâncias inflamatórias como interleucinas (IL-1), fator de necrose tumoral (TNF-alfa) e fatores teciduais. Esses fatores em conjunto vão promover a síntese de lipídios e proteínas pelas células vizinhas e a mitose e a migração de mediadores inflamatórios. Todas essas ações incorrem diretamente na aterogênese, nas alterações da motilidade da musculatura do vaso e da coagulação sanguínea (BEHRENDT et al, 2002; SHEKHANAWAR et al., 2013). A expressão do fator estimulador de colônia de monócitos (M-CSF) pelas células endoteliais é aumentada pela LDL oxidada (LDL-Ox) e isto promove a proliferação de linfócitos e diferenciação destes

em macrófagos. A LDL-Ox estimula a expressão de moléculas de adesão como a molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) e proteína quimiotática de monócitos (MCP-1), proporcionando a migração e a adesão de monócitos e linfócitos T às áreas lesadas. Todo este cenário gerido pelas partículas de LDL-Ox favorece o estabelecimento de placas ateroscleróticas nos vasos.

1.4.3 Paraoxonase e outros Fatores de Risco

A ação antioxidante da HDL é atribuída em grande parte a atividade da paraoxonase (PON1) (SHEKHANAWAR et al., 2013). A relevância da ação antioxidante da paraoxonase se estabelece em função da ação enzimática que atua na inibição da peroxidação da LDL, minimizando o processo. O complexo HDL-PON1 também inibe a diferenciação de monócitos em macrófagos, e estes são células pivôs na formação da placa aterosclerótica. Mackness e colaboradores (2013) em estudo recente obteve resultados que evidenciaram a atividade da PON1 como fator de risco preditivo para evento cardiovascular, independente de outros fatores (MACKNESS et al., 2013).

Concentrações elevadas de homocisteína também estão associadas ao risco aumentado de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Os metabólitos da homocisteína são as principais vias de sua toxicidade, como por exemplo, o acúmulo de N-Hcy-proteínas desempenha papel já descrito na fisiopatologia das doenças cardiovasculares (CHEN et al., 2006). CHEN e colaboradores (2006) concluíram em suas pesquisas que a Hcy-thioctalona é um indicador preditivo de DCV mais direto do que o próprio nível de Hcy plasmático, sendo assim, a capacidade de detoxificar a Hcy é fundamental para a integridade corporal. Jakubowski (2010) em estudos recentes destacou também a capacidade da HDL para hidrolisar a Hcy-thiolactina e evitar o acúmulo de N-Hcy-proteínas. Pois, estas proteínas desempenham papel importante na fisiopatologia das doenças vasculares ateroscleróticas. Ele também demonstrou que a PON1 possui atividade Hcy-thiolactanase, propriedade que protege do acúmulo danoso e pró-aterogênico de Hcy-N-proteínas (SHE et al., 2012).

1.4.4 Paraoxonase e Diabetes

Já está bem estabelecido que a atividade enzimática e concentração em massa da PON1 estão diminuídas em pacientes diabéticos. A glicação proteica reduz ou mesmo inativa a ação da PON1 através da ação de espécies reativas de oxigênio (ROS), este é um dos mecanismos possíveis para explicar a menor atividade medida desta enzima em pacientes diabéticos (AVIRAM et al., 1999).

As atividades antioxidantes da PON1 também se mostram protetoras no desenvolvimento do Diabetes. Estudos recentes evidenciaram envolvimento da PON1 na fisiologia do DM, quando a PON1 é administrada em ratos *in vivo* e em células beta pancreáticas *in vitro* diminuiu o desenvolvimento do DM, aumentou a biossíntese de insulina e a secreção de insulina pelas células beta pancreáticas (KOREN-GLUZER et al., 2011). Ainda, estudos mostram que pacientes diabéticos com atividade de PON1 menor que a média da população controle apresentam maior incidência de DCV, assim como aumento do risco de eventos cardiovasculares (MACKNESS et al., 2003; IKEDA et al., 2009).

1.4.5 APOA-I

A apoA-I é o principal componente proteico da HDL, é sintetizada nos hepatócitos e enterócitos, e na circulação encontra-se em associação a lipídios ou na forma livre. A apoA-I desempenha ação importante no TRC, pois, estimula o efluxo de colesterol fornecendo substrato para a LCTA, e atua na transformação da HDL nascente para HDL discoidal. Já foi demonstrada correlação inversa significativa entre as concentrações séricas de apoA-I e DAC (WALLDIUS et al., 2001). Ainda, esse mesmo estudo, “The Apolipoprotein-related Mortality Risk Study” (Amoris) (HOLME et al., 2010), demonstrou também que concentrações elevadas de apoB estão fortemente relacionadas com maior risco cardiovascular, uma vez que a apoA-I é protetora em ambos os gêneros.

1.5 RAZÕES CALCULADAS A PARTIR DA CONCENTRAÇÃO DE BIOMARCADORES LABORATORIAIS UTILIZADAS PARA ESTIMAR RISCO DE DAC

As razões obtidas das concentrações das moléculas carregadas por lipoproteínas vem sendo bastante utilizadas nos últimos anos como estimativa de risco cardiovascular, pois, a identificação isolada desses marcadores lipídicos podem não predizer adequadamente o risco de DCV (SANTOS et al., 2014). Recentes estudos tem relacionado a razão

TG/HDL-C ao risco de desenvolvimento de DCV (HADAEGH et al., 2009; BERTOLUCI et al., 2010), em geral a elevação sérica de TG e redução de HDL-C é indicativo da presença de LDL pequena e densa (LEMIEUX et al., 2001). Aqui, mostramos a utilização do índice TG/HDL-C para classificar a LDL em dois fenótipos distintos: quando valores $> 3,8$ (encontra-se 79% de fenótipo B) e $<$ que este valor (encontra-se 81% de fenótipo A) (DA-LUZ et al., 2008). Existe também, outra forma de utilização dessa razão que é sua transformação logarítmica, o chamado índice aterogênico plasmático (IAP) que divide o risco em três categorias: baixo $< 0,11$, intermediário $0,11-0,21$ e alto $> 0,21$ (CABARKAPA et al., 2012). O IAP tem sido citado como o índice que pode ser utilizado para avaliar intervenções que levem à regressão da aterosclerose subclínica (YILDIZ et al., 2013), por estar relacionado com o espessamento da camada íntima-média vascular (IMT).

A razão apoB/apoA-I reflete balanço do transporte de colesterol, sendo apontado como risco os valores $> 0,9$ (FORTI e DIAMENT, 2007; HUANG et al., 2013). O estudo INTERHEART, encontrou que a razão apoB/apoA-I é importante preditor de risco para DAC (YUSUF et al., 2004).

A Sociedade Europeia de Cardiologia e Sociedade Europeia de Aterosclerose recomendam que o não-HDL-C (colesterol total – HDL-C) é melhor indicador de risco do que o LDL-C isoladamente, principalmente, em pacientes com hipertrigliceridemia (SANTOS et al., 2014).

A razão HDL-C/apoA-I, que estima a concentração de colesterol por partícula de HDL (ABBASI et al, 2013b) traz como vantagem a possibilidade de poder avaliar o estado funcional da HDL que é alterado em pacientes com hipertrigliceridemia (BRITES et al., 2000). Outra razão que vem sendo utilizada é a LDL-C/apoB, que estima a concentração de colesterol por partícula de LDL, também traz maior valor agregado para estimar risco de DCV em pacientes com altas concentrações de triglicérides (KWON et al., 2011; TANI et al., 2011).

As doenças cardiovasculares, mais especificamente a doença aterosclerótica, tem um impacto importante na morbidade e mortalidade dos indivíduos diabéticos. A dinâmica metabólica da glicose e dos lipídeos, quando em desarmonia, vão proporcionar o desenvolvimento da aterosclerose. O remodelamento da partícula de HDL envolve outras partículas e etapas cruciais no processo da aterosclerose, e possibilita o entendimento do

processo além de instigar a aplicação deste conhecimento para fins que minimizem a condição atual.

2 JUSTIFICATIVA

A aterosclerose, caracterizada como evento multifatorial, traz como principal problema a presença de lipoproteínas modificadas, como por exemplo, a lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDL-Ox). Por outro lado, vários estudos têm mostrado o efeito antiaterogênico da lipoproteína de alta densidade (HDL), sobretudo, devido à sua propriedade de transportar principalmente colesterol dos tecidos periféricos para o fígado, o que é conhecido como transporte reverso do colesterol (TRC). Contudo, outras ações protetoras da HDL, além do TRC, têm sido descritas em diversos estudos. Essas ações incluem: proteção antioxidante, mediação do efluxo de colesterol, inibição da expressão de moléculas de adesão celular e ativação de leucócitos, produção de óxido nítrico (NO), regulação da coagulação e da atividade plaquetária (LIMA e COUTO, 2006), além de atuar na fisiopatologia do diabetes tipo 2 (DREW et al., 2012). A diabetes aumenta o risco de DAC, predispondo a DAC precoce, comportamento esse mostrado em diversos consensos (IV Diretrizes – Sociedade Brasileira de Dislipidemias, 2007).

Sendo assim, pretendemos avaliar a importância da atividade antioxidante e da funcionalidade da partícula de HDL a partir do seu remodelamento e da concentração e atividade de marcadores de risco associados à aterosclerose em pacientes diabéticos e não diabéticos com doença aterosclerótica coronária (DAC). As alterações observadas no perfil lipídico desses pacientes mostra a necessidade de ação rápida para diminuir o risco cardiovascular precoce nessa população.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar se existem diferenças no remodelamento da HDL e atividade antioxidante entre pacientes diabéticos e não diabéticos com doença aterosclerótica coronária confirmada por angiocoronariografia.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar, quantificar e estimar biomarcadores relacionados ao remodelamento de partículas lipoprotéicas e ao risco cardiovascular em função da concentração de colesterol na HDL, colesterol livre total, LDL-C, apoB, apoA-I, atividade da paraoxonase 1 (PON1), razões de risco (ex. TG/HDL-C, LDL-C/ApoB, HDL-C/apoA-I, PON/apoA-I, apoB/ApoA-I) tamanho estimado de partículas de HDL, LDL, glicemia, insulina e HbA1c.

4 METODOLOGIA

4.1 CÁLCULO AMOSTRAL, CASUÍSTICA E DESENHO DO ESTUDO

Em função das perdas de seguimento que impactaram no tamanho amostral, casuística atual de 69 pacientes, foi necessário o recalculado do número de amostras para obter poder de teste mínimo de 80%, capaz de identificar diferenças absolutas de 7,14 unidades entre as medianas, utilizando desvio padrão de referência da paraoxonase de 10% (para valores elevados compatíveis com DAC. O nível crítico escolhido para significância foi de 0,05 (5%), para intervalo de confiança de 95%. Cumpre ressaltar que em função do poder do teste ter sido obrigatoriamente de apenas 80%, 20% dos testes serão não significantes, em função da possibilidade de erro tipo II (β), involuntariamente nesse percentual de pacientes da casuística (GraphPad StatMate 2.0).

Foi realizado estudo observacional, transversal, onde os participantes do estudo (pacientes diabéticos e não diabéticos) foram selecionados por conveniência. Do total, 116 pacientes foram selecionados, porém, durante o estudo foi decidido manter apenas pacientes do sexo masculino, principalmente, em função da proteção estrogênica nas mulheres, o que poderia configurar variável de confusão. Sendo o grupo de pacientes feminino removido do estudo para posterior análise e avaliação. Dessa forma, foram incluídos no estudo 69 pacientes do sexo masculino, entre 18 e 75 anos, oriundos da Enfermaria de Cardiologia do Hospital Ana Neri/UFBA, esses subdivididos em dois subgrupos: diabéticos e não diabéticos, ambos, com doença aterosclerótica coronária. Ressaltamos que não foram realizadas punções sanguíneas adicionais para a obtenção das

amostras, ou seja, a punção fez parte da solicitação para as determinações laboratoriais dos pacientes encaminhados pelo serviço médico. Este projeto de pesquisa teve a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Ana Neri – HAN/UFBA, N^o 83/11 (ANEXO).

Após coleta das amostras, as mesmas foram encaminhadas para o Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade da Farmácia da UFBA, setor: Bioquímica Aplicada ao Diagnóstico Laboratorial Humano, para processamento das determinações especializadas.

4.2 CRITÉRIOS E CONDIÇÕES DE ELEGIBILIDADE

4.2.1 Critérios de Inclusão

Pacientes entre 18 e 75 anos; com e sem diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2; diagnóstico de doença aterosclerótica coronária; pacientes submetidos ao cateterismo cardíaco no Hospital Ana Nery; e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

4.2.2 Critérios de Exclusão

Não concordância e falta de assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; menores de 18 anos ou maiores de 75 anos; portadores de doença renal crônica (creatinina > 2,0 mg/dL); portadores de cirrose hepática e tireoidopatias.

4.2.3 Protocolo Inicial de Estudo

Os pacientes participantes do estudo após preenchimento do questionário epidemiológico assinaram termo de consentimento livre e esclarecido para participar do estudo. Os pacientes encontravam-se internados na enfermaria de cardiologia do Hospital Ana Nery. Todos os pacientes foram admitidos na enfermaria via ambulatório de cardiologia do Hospital Ana Nery ou via Pronto Atendimento do mesmo hospital, após ter o quadro clínico estabilizado. Após esta etapa, as punções venosas foram realizadas, todas elas antes do procedimento cirúrgico. As amostras de plasma e soro foram coletadas com pelo menos 12 horas de jejum e utilizadas tanto para a execução das solicitações dos pacientes quanto para o protocolo de pesquisa.

4.3 MATERIAIS UTILIZADOS

O paraoxon (Sigma Chem. CO), os conjuntos diagnósticos para determinação do perfil lipídico e demais biomarcadores de estresse oxidativo e de avaliação geral do estado de saúde dos participantes, reativos e solventes foram adquiridos na indústria químico-farmacêutica local ou através de importação direta.

4.4 DETERMINAÇÕES LABORATORIAIS

As determinações laboratoriais foram realizadas em amostras de soro, plasma e sangue total, essa última coletada em ácido-etileno-diamino-tetracético (EDTA), obtidas após jejum de pelo menos 12 horas. As concentrações de glicose, colesterol total (CT), suas frações e triglicérides (TG) foram determinadas com base na metodologia de Trindler, reações enzimáticas de ponto final, utilizando espectrofotômetros automatizados. O HDL colesterol (HDL-C) foi determinado por método homogêneo direto (Wiener® Lab, Argentina) a partir da ação de poliânions. As concentrações do colesterol de VLDL e LDL foram calculadas pela fórmula de FRIEDEWALD: $LDL-C = CT - (HDL-C + TG/5)$ para valores de TG até 399mg/dL. O colesterol livre total foi determinado a partir da utilização de metodologia *in house*, em protocolo de proteção de patente, devidamente instituída, com base nas RDC-ANVISA nº 206/2006 e 302/2005.

Foram também determinadas as concentrações das apoproteínas A-I (apoA-I), apoproteína B (ApoB) e insulina por métodos imuno-químicos (imuno-nefelométricos, IMMAGE® Immunoassay System, Beckman Coulter, USA). A hemoglobina glicada (HbA1c) foi determinada em equipamento de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE/HPLC), com rastreabilidade a partir de registros da National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) D-10-Hemoglobin A_{1c} Testing System (Bio-Rad, France). Para as determinações espectrofotométricas foi utilizado o equipamento automatizado BT3000 – Clinical Chemistry Analyzer (Wiener® Lab, Argentina). Todos os resultados foram validados a partir da utilização, durante cada corrida analítica, de amostra controle fornecida pelo Programa Nacional de Controle de Qualidade PNCQ, da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas. Todas as determinações acima foram realizadas em equipamentos com protocolos específicos para automação completa.

4.5 ATIVIDADE DA PARAOXONASE

A atividade da paraoxonase (PON1) foi determinada indiretamente pelo método colorimétrico da formação do p-nitrofenol pelo paraoxon (O,O-diethyl-O-p-nitrofenilfosfato) (Mackness et al., 2001). Nesse método avalia-se a formação do p-nitrofenol a partir da adição do substrato paraoxon (O,O-diethyl-O-p-nitrofenilfosfato). Consiste na adição de 140 uL de tampão Tris-HCl 0.1M, pH 8.05 (contendo 2mmol/L de CaCl₂ e 1.1 mmol/L de paraoxon da Sigma Chemical Co.) em 7uL de soro. A leitura espectrofotométrica foi realizada em comprimento de onda de 405nm a 37°C utilizando “Leitor de Microplacas” (Microplate Reader, Benchmark, BIO-RAD). Para cálculo da atividade, foram feitas seis leituras em intervalo de um minuto cada. O resultado final foi obtido a partir da multiplicação da média da variação das absorbâncias pelo fator, conforme segue:

Fator = $VTR (mL) / \epsilon_{405} \times VA (mL) \times E (cm)$, onde: VTR - Volume total da reação; VA – Volume da amostra; E – Espessura da cubeta; $\epsilon_{405} - 1805 L M^{-1} cm^{-1}$

Logo, atividade da Paraoxonase = Fator x $\Delta abs/min$.

4.6 ESTIMATIVAS DE RISCO CARDIOVASCULAR

Como marcadores sugestivos de desfecho foram utilizadas as seguintes razões de risco: CT/HDL-C, LDL-C/HDL-C, fração não-HDL-C (colesterol não-HDL) (SANTOS et al, 2014); TG/HDL-C (estimativa de tamanho de partícula de LDL) (SANTOS et al, 2014), HDL-C/apoA-I (estimativa de quantidade de colesterol por partícula e tamanho da HDL), LDL-C/apoB (estimativa de quantidade de colesterol por partícula e tamanho de LDL), apoB/apoA-I (medida direta de risco cardiovascular) e PON1/apoA-I (atividade de paraoxonase por partícula de HDL).

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise descritiva dos dados foi realizada a partir da determinação das estimativas de centralidade e dispersão para obtenção de medidas resumo, seguida do teste de normalidade de D’Agostino-Pearson. Para as análises estatísticas inferenciais foi

realizado o teste de Grubbs para a detecção de outliers. A estatística inferencial foi seguida de testes paramétricos e não paramétricos (Teste t e teste de *Mann-Whitney U*) em função do tipo de distribuições dos dados em torno da média para cada variável estudada. Para todos os dados foram considerados significantes as diferenças com nível crítico ($p < 0,05$ (5%)) para intervalo de confiança de 95%. Também foram realizadas análises de correlação linear quando necessário, em função do tipo de distribuição dos dados. Para a análise dos dados foram utilizados os Softwares GraphPad InStat v.3.05 e GraphPad Prism 5.01 (GraphPad Software, Inc., CA, USA).

6 RESULTADOS

A tabela 1 mostra dados de algumas características gerais elencadas por grupo: masculino diabético e masculino não diabético. A idade dos pacientes diabéticos foi ligeiramente maior do que a dos pacientes não-diabéticos. Entre os pacientes não-diabéticos 34 fumavam, em contrapartida apenas 12 pacientes diabéticos fumavam.

A tabela 2 abaixo mostra os valores médios e desvio padrão obtidos a partir das determinações laboratoriais. Na mesma tabela, são também mostrados os resultados das análises de comparação entre as medidas resumo de cada variável dos grupos: masculinos diabéticos (MDM), masculinos não-diabéticos (MNDM), que representam os valores obtidos dos marcadores e estimativas de risco convencionalmente utilizados para avaliação do risco cardiovascular.

Tabela 1 - Idade e características gerais dos pacientes. Os dados são apresentados por média e desvio-padrão.

Variáveis	DM (n=26)	NDM (n=43)
IDADE	61 ± 9 anos (n=26)	53 ± 12 anos (n=43)
TABAGISMO	12	34
IAM PRÉVIO	15	16
IMC	27,45 ± 9,26 kg/m ²	31,71 ± 4,15 kg/m ²

Obs. DM= diabéticos masculinos; NDM= não diabéticos masculinos; IAM= infarto agudo do miocárdio; IMC= índice de massa corpórea.

Na tabela 2, observam-se maiores concentrações da glicemia de jejum em pacientes diabéticos, fato já esperado e estatisticamente significante.

Tabela 2. Comparações e dados dos marcadores e estimativas laboratoriais utilizados para avaliação do risco cardiovascular dos pacientes participantes do estudo.

Marcadores e estimativas	DM MASCULINO (MDM)	NDM MASCULINO (MNMDM)	COMPARAÇÃO MDM vs MNMDM
Glicose jejum	141±64 (n=26)	97±38 (n=39)	p = 0,004
Insulina	3,4±3,1 (n=23)	4,2±5,9 (n=34)	NS
CT	129±31 (n=26)	128±38 (n=40)	NS
LDL-C	83±26 (n=23)	85±27 (n=35)	NS
HDL-C	30±7 (n=26)	30±11 (n=40)	NS
N-HDL-C	99±33 (n=26)	90±41 (n=43)	NS
CL	0,4487±0,871 (n=16)	0,1363±0,066 (n=25)	NS
TG	128±68 (n=26)	125±56 (n=39)	NS
ApoA	149±28 (n=22)	154±55 (n=34)	NS
ApoB	80±22 (n=22)	75±25 (n=34)	NS
ApoB/ApoA	0,6±0,05 (n=22)	0,5±0,04 (n=34)	NS
PON1	46,68±22,3 (n=23)	45,60±25,2 (n=43)	NS
PON1/apoA-I	0,33±0,18 (n=22)	0,30±0,17 (n=34)	NS
TG/HDL-C	4,83±3,77 (n=26)	4,53±28,9 (n=40)	NS
HDL-C/apoA-I	0,19±0,04 (n=22)	0,21±0,03 (n=34)	NS
LDL-C/ApoB	0,65±0,28 (n=19)	0,65±0,33 (n=33)	NS

Obs. Foram realizadas análises paramétrica e não paramétrica em função do tipo de distribuição dos dados de cada variável (teste de *Mann-Whitney U* ou Teste t). A significância, ou seja, a diferença entre os grupos foi aceita quando o nível crítico (p) foi inferior a 0,05 (5%) para o intervalo de confiança (I.C.) de 95%. Foi realizado teste para detecção de *outliers* (teste de *Grubb*), quando o teste foi significativo, o valor então foi suprimido para a realização das análises. Os dados são apresentados por média ± desvio padrão, e número (n) de dados por tipo variável em cada grupo. Siglas não convencionais utilizadas: N-HDL-C= colesterol não HDL; CL= colesterol livre; ApoA-I= apolipoproteína A-I; ApoB= apolipoproteína B; PON1= atividade da paraoxonase.

As tabelas 3 e 4 a seguir mostram os resultados das matrizes de correlação linear de Pearson para os grupos masculinos diabéticos (MDM), masculinos não diabéticos (MNMDM) - análise intragrupo - dados que normalmente não são esperadas correlações por dependência. Os dados totais das correlações obtidas para os grupos diabéticos e não diabéticos são mostrados em anexo.

Tabela 3. Matriz de correlação de Pearson (p; r) entre as variáveis analisadas no grupo de **pacientes diabéticos**.

	HDLC	CL	ApoB/ApoA
HDL-C		<u>0,01083</u>	
INSULINA		0,617	<u>0,02427</u> 0,48960
LDL-C/APOB	<u>0,02097</u> -0,525		

Na tabela 3 observa-se correlação moderada positiva do HDL-C com o colesterol livre e da insulina com a razão ApoB/ApoA. Correlação moderadamente negativa é evidenciada entre a razão LDL-c/ApoB e HDL-C.

Tabela 4. Matriz de correlação de Pearson (p; r) entre as variáveis analisadas no grupo de **pacientes não diabéticos**.

	COLT	HA1C	PON1/APOA	HDLC/APOA
HDL-C		<u>0,03237</u> -0,444	<u>0,05844</u> -0,27396	
CL			<u>0,00655</u> -0,49877	<u>0,03742</u> -0,37034
PON1	<u>0,04447</u> 0,272	<u>0,02163</u> -0,45609		

A tabela 4 faz a análise das variáveis no grupo de pacientes não diabéticos. Neste grupo houve correlação negativa moderada a forte entre o HDL-C e a HA1C, HDL-C e a razão PON1/APOA e entre o CL e a razão PON1/APOA, o CL e a razão HDL-C /APOA e a PON1 e a HA1C. Correlação positiva foi observada entre a PON1 e o colesterol total.

7 DISCUSSÃO

O papel da lipoproteína de alta densidade (HDL) vem sendo basicamente atrelado ao transporte reverso do colesterol, atividade antioxidante e antiaterogênica (LIMA E COUTO, 2006), por outro lado, atualmente vários estudos vêm mostrando a capacidade da partícula de HDL, e seus constituintes, de modular a glicemia (DREW et al., 2012). Esse fenômeno está associado à redução da concentração de glicose plasmática em função da estimulação da secreção de insulina e aumento da captação de glicose na musculatura esquelética por ativação da via de sinalização AMP-kinase (DREW et al., 2012). Porém, dado ao processo inflamatório e pro-aterogênico observados no diabetes tipo 2, a partícula de HDL tem sua concentração diminuída (dos seus constituintes; colesterol livre e esterificado, apoA-I dentre outros) e desestabilizada. Este fato reflete diretamente na qualidade do transporte reverso do colesterol, impactando também na qualidade das lipoproteínas. As lipoproteínas tornam-se mais aterogênicas, em função da incapacidade de serem protegidas de agentes modificadores tipo radicais livres de oxigênio, hidroperóxido e outras reações bioquímicas como acetilações, nitrações e glicações que acontecem *in vivo* (LIMA et al., 2005). Algumas alterações do metabolismo das lipoproteínas são tipicamente observadas na diabetes tipo 2 como por exemplo a redução do colesterol da HDL (HDL-C) e elevação da concentração de triglicérides (TG) (SOLANO et al., 2006). Na tabela 2, não foi observado esta particularidade nos pacientes diabéticos em relação aos pacientes não diabéticos, o que pode ser atribuído ao fato destes pacientes já estarem submetidos a tratamentos e intervenções que podem modificar este perfil. Ainda, cumpre ressaltar que essas alterações já são observadas logo antes do início da diabetes (pré-diabetes) e que estão associadas a resistência insulínica (SOLANO et al., 2006). Couto e colaboradores (2007) observaram que o colesterol livre (fração não esterificada do colesterol) foi significativamente mais captado em tecidos arteriais (artérias radial, torácica interna e coronárias) quando comparado ao colesterol esterificado isotopicamente marcados. No nosso estudo encontramos correlação positiva importante entre a concentração de HDL-C e do colesterol livre (CL), na população diabética masculina, ou seja, a concentração de CL que está sendo removido da circulação é proporcional ao colesterol da HDL. O colesterol biodisponível nas membranas

plasmáticas é removido pela HDL, esterificado, e transportado para o fígado ou transferido para outras lipoproteínas (LIMA e COUTO, 2006). Esse fenômeno é conhecido como transporte reverso do colesterol (LIMA e COUTO, 2006). Segundo Couto e colaboradores (2007), o colesterol livre, não esterificado, é transportado entre as lipoproteínas e então levado aos tecidos, local onde será esterificado. Não se sabe ainda por certo qual é de fato a implicação real do colesterol livre no processo aterogênico, por outro lado, já está bastante documentada a redução da concentração do colesterol na partícula de HDL como fator de risco para a aterosclerose. A correlação positiva entre HDL-C e CL mostra que o aumento da concentração do colesterol na partícula de HDL aumenta proporcionalmente a elevação do CL plasmático, embora não seja possível afirmar que há associação entre as variáveis, o aumento da partícula de HDL se dá em função da esterificação do colesterol livre removido de membranas biológicas e de outras lipoproteínas (LIMA e COUTO, 2006; COUTO et al., 2007; SANTOS et al., 2014; HELLERSTEIN et al., 2014). Em relação a razão LDL-C/ApoB, foi observado correlação negativa importante entre essa razão e o HDL-C, ou seja, a quantidade de CE por partícula de LDL é inversamente proporcional à quantidade de CE removido da circulação na HDL. Segundo Bouillet e colaboradores (2014) os pacientes diabéticos, tanto tipo 1 quanto tipo 2, em função da hiperglicemia contínua, tem a função da apoC1 perdida por fenômeno de glicação proteica. A apoC1 tem sabidamente função inibitória da proteína de transferência de colesterol livre (CETP). Dada à incapacidade de regular a ação da CETP, essa, excessivamente ativa, contribui com a incorporação contínua de ésteres de colesterol (CE) nas partículas de VLDL, reduzindo ainda as partículas de HDL, doadoras de CE. Esse fenômeno observado em população diabética e não em hipertrigliceridemicos ou portadores de outros tipos de dislipidemia, agrava sobremaneira o risco para o desenvolvimento de aterosclerose precoce, dado a redução da HDL e do HDL-C e do enriquecimento de β -VLDL (remanescentes de VLDL) com CE. Outros fatores agravantes também foram evidenciados, como por exemplo, a correlação positiva entre a razão ApoB/ApoA e a concentração de insulina, também apenas na população diabética, ou seja, maior a razão ApoB/ApoA maior a concentração de insulina ou vice-versa, o que eleva o risco de doença precoce por degradação da ApoA-I e da HDL. Essa informação corrobora estudos recentes mostrando o papel da HDL e do CL no controle glicêmico (LAVERDY et al., 2015). Ainda, observou-se correlação negativa importante entre a razão PON-1/ApoA e HDL-C/ApoA com a concentração de CL na população não-

diabética masculina, ou seja, maior a atividade de PON-1 e concentração de CE por partícula de apoA-I (HDL) menor a concentração de CL no plasma. Conforme achados de Bouillet e colaboradores (2014) e Laverdy e colaboradores (2015), na diabetes tanto a glicação, reduzindo o controle da CETP, quanto a concentração de CL, estão relacionados com descontrole glicêmico. Várias outras correlações foram notadas, por exemplo, correlação negativa entre a HDL-C e a PON-1 com a HbA1c, na população não-diabética masculina, ou seja, quanto maior a concentração de CE removido na HDL e maior atividade da PON-1, menor a glicação proteica (HbA1c). Os percentuais de HbA1c variam em função das concentrações de glicose plasmática em cerca de 28mg/dL de glicose média plasmática para cada 1% de HbA1c (ADA, 2015). Esse achado aponta para as diferenças de risco cardiovascular entre populações diabéticas e não diabéticas, sem considerar comorbidades associadas, pois a população diabética desenvolve doença aterosclerótica precoce, dada as alterações metabólicas recentemente divulgadas na literatura (BOUILLET et al., 2014; LAVERDY et al., 2015). Ainda, foi observada correlação positiva significativa entre a razão PON-1/ApoA e LDL-C/ApoB, na população não-diabética masculina, ou seja, quanto maior a concentração de CE na LDL (maior LDL) maior a atividade da PON-1 por partícula de HDL. Mostrando aqui a ação da PON-1 na proteção da LDL. Segundo Kumar e Rizvi (2014) a PON1 protege a LDL e a HDL de produtos ativados de hidrólise de fosfolípidos e hidroperóxido. Ainda em seu estudo Kumar e Rizvi confirmaram o declínio da atividade da PON1 em função do envelhecimento. Esse processo natural de perda da proteção anti-oxidação das lipoproteínas parece ficar mais susceptível na presença de comorbidades, como, por exemplo, o diabetes (LAVERDY et al., 2015). Ainda na análise dos dados observou-se correlação positiva significativa entre a razão PON-1/ApoA e HDL-C/ApoA, na população não-diabética masculina, ou seja, quanto maior a atividade da PON-1 maior a concentração de CE por partícula de HDL. Esse achado é compatível com a ação da PON-1 na proteção da HDL e também no transporte reverso do colesterol, pois, está correlacionada com o aumento da concentração de CE na HDL. Os resultados do estudo de Siewert e colaboradores (2015) mostram que a diabetes mellitus tipo 2 é caracterizada por intenso estresse oxidativo, e que as alterações observadas no perfil das lipoproteínas e atividade da PON-1 podem estar relacionados com a maior atividade da CETP nos pacientes diabéticos, como consequência da resistência à insulina. Esse achado faz uma ligação entre a concentração de CE na HDL e ação da PON1.

8 LIMITAÇÃO DO ESTUDO

Por se tratar de estudo com pacientes internados e unidade hospitalar e dada as características próprias dos estudos transversais é interessante que outros estudos sejam conduzidos para que seja possível ratificar os resultados. Em relação à casuística, os pacientes femininos, total 47 foram excluídos do estudo por apresentarem, os ditos não diabéticos, glicemias de jejum acima dos valores de corte para normalidade, fato esse inicialmente entendido como diabetes iatrogênica, e também pela proteção estrogênica bastante conhecida neste gênero. Esse grupo de pacientes será estudo em separado para assegurar os resultados.

9 CONCLUSÃO

Os achados desse estudo mostram que o cálculo das razões utilizadas para a análise de risco cardiovascular são importantes indicadores durante a análise de correlação com marcadores séricos sugestivos de risco cardiovascular em população masculina diabética. Pois, com a sua utilização, nesta casuística, foi possível ratificar diversas alterações no metabolismo lipídico dos pacientes diabéticos que impactam negativamente no remodelamento da partícula de HDL e no transporte reverso do colesterol, impactos esses que podem exacerbar desfechos de aterosclerose precoce

REFERÊNCIAS

ABBASI, A. et al. Role of HDL cholesterol and estimates of HDL particle composition in future development of type 2 diabetes in the general population: the PREVEND study. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v.98, n. 8, p. 1352-1359, 2013.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care in diabetes. **Diab. Care**, v. 38, n. 1, p. S1-S94, 2015.

AVIRAM, M. et al. Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 26, p. p. 892-904, 1999.

BACHORIK, P. S.; RIFKIND, B.M.; KWITEROVICH, P.O. Lipídeos e dislipoproteinemias. In: HENRY J. B. **Diagnósticos clínicos e tratamentos por métodos laboratoriais**. 2 ed. São Paulo: Manole, 1999.

BEHRENDT, D.; GANZ, P. Endothelial function. From vascular biology to clinical applications. **Am. J. Cardiol.**, v. 21, p. 90: 10C; 40L-48L, 2002.

BERTOLUCI, M.; QUADROS, A.; SARMENTO-LEITE, R.; SCHAAN, D.B. Insulin resistance and triglyceride/HDLc index are associated with coronary artery disease. **Diabetol. & Metab. Syndr.**, v. 2, p. 11, 2010.

BITZUR, R. et al. Triglycerides and HDL cholesterol: stars or second leads in diabetes? **Diab. Care**, v. 32, p. S2; S373-S377, 2009.

BOUILLET, B.; Glycation of apolipoprotein C1 impairs its CETP inhibitory property: pathophysiological relevance in patients with type 1 and type 2 diabetes. **Diab. Care**, v. 37, n. 4, p. 1148-1156, 2014.

BRITES, F. D.; Influencia de la hipertrigliceridemia en el transporte reverso del colesterol. **Acta Bioquím. Clín. Latinoam.**, v. 31, n. 3, p. 253-274, 1997.

CABARKAPA, V. et al. Evaluation of lipid parameters and bioindices in patients with different stages of chronic renal failure. **Vojnosanitetski Pregled.**, v. 69, n. 11, p. 961-966, 2012.

CORRÊA-CAMACHO, C.R.; DIAS-MELICIO, L.A.; SOARES, A. Aterosclerose, uma resposta inflamatória. **Arq. Ciênc. Saúde**, v. 14, n. 1, p. 41-48, 2007.

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.1, p. 411-418, 2007.

DA-LUZ, P.L. et al. High ratio of triglycerides to HDL-cholesterol ratio predicts extensive coronary disease. **Clinics**, v. 63: p. 427-32, 2008.

DILEEP, K.; SYED IBRAHIM, R. Age-Dependent Paraoxonase 1 (PON1) Activity and LDL Oxidation in Wistar Rats during Their Entire Lifespan. **The Scientific World Journal**. Volume 2014, Article ID 538049; 6 pages; <http://dx.doi.org/10.1155/2014/538049>.

DREW, B.G. High-density lipoprotein modulates glucose metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. **Circulation**, v. 119, p. 2103–2111, 2009.

DREW, B.G. et al. The emerging role of HDL in glucose metabolism. **Nat. Reviews Endocrinol.**, v. 8, p. 237-245, 2012.

FERRAZ, M.L.F. **Avaliação Morfológica da Aterosclerose em Aortas de Pacientes Autopsiados**. 99 f. il. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Triângulo Mineiro, 2008.

FORTI, N.; DIAMENT, J. Apolipoproteínas B A1: Fatores de risco cardiovascular? **Rev. Ass. Méd. Bras.**, v. 53, n. 3, p. 276-282, 2007.

HADAEGH, F. et al. Triglyceride/HDL-cholesterol ratio is an independent predictor for coronary heart disease in a population of Iranian men. **Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.**, v. 19, n.6, p. 401-408, 2009.

HELLERSTEIN, M.; TURNER, S. Reverse cholesterol transport fluxes. **Curr. Opin. Lipidol.**, v. 25, n.1, p. 40-47, 2014.

HOLME, I. et al. Inflammatory markers, lipoprotein components and risk of major cardiovascular events in 65,005 men and women in the Apolipoprotein MOrtality RISK study (AMORIS). **Atherosclerosis**, v. 213, n.1. p. 299-305, 2010.

HUANG, F. et al. Both serum apolipoprotein B and the apolipoprotein B/apolipoprotein A-I ratio are associated with carotid intima-media thickness. **PLoS ONE**, v. 8, n.1, p. e54628, 2013.

IKEDA, Y. et al. Low human paraoxonase predicts cardiovascular events in Japanese patients with type 2 diabetes. **Acta Diabetol.**, v. 46, p. 239–242, 2009.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION (IDF) Task Force on Clinical Practice Guidelines, 2014.

INTROCASO, L. História natural da aterosclerose. **Atheros**, v. 12, p. 27-32, 2001.

JAKUBOWSKI H. The role of paraoxonase 1 in the detoxification of homocysteine thiolactone. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v. 660, p.113–127, 2010.

KIMURA, T. Mechanism and role of high density lipoprotein-induced activation of AMP-activated protein kinase in endothelial cells. **J. Biol. Chem**, v. 285, p. 4387–4397, 2010.

KOREN-GLUZER, M.; AVIRAM, M.; MEILIN, E.; HAYEK, T. The antioxidant HDL-associated paraoxonase-1 (PON1) attenuates diabetes development and stimulates β -cell insulin release. **Atherosclerosis**, v. 219, n. 2, p. 510-518, 2011.

KUMAR, D.; RIZVI, S.I. Age-Dependent Paraoxonase 1 (PON1) Activity and LDL Oxidation in Wistar Rats during Their Entire Lifespan. **Scient. World J.**, Article ID 538049, 2014.

KWON, C.H. et al. Low-density lipoprotein cholesterol to apolipoprotein B ratio is independently associated with metabolic syndrome in Korean men. **Metabolism**, v. 60, n. 8, p.1136-1141, 2011.

LAAKSO, M. et al. Cardiovascular disease in type 2 diabetes: challenge for treatment and prevention. **J. Intern. Med.**, v. 249, p. 225–235, 2001.

LAVERDY, O. et al. Effects of Glycemic Control upon Serum Lipids and Lipid Transfers to HDL in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: Novel Findings in Unesterified Cholesterol Status. **Exp. Clin. Endocrinol. & Diabetes**, v. 123, p. 232-239, 2015.

LEANÇA, C.C.; PASSARELLI, M.; NAKANDAKARE, E.R.; QUINTÃO, E.C. HDL: the yin-yang of cardiovascular disease. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.**, v. 54, n. 9; p. 777-784, 2010.

LEMIEUX, I. Hypertriglyceridemic waist. A marker of the atherogenic metabolic triad (hyperinsulinemia, hyperapolipoprotein B, small dense LDL) in men? **Circulation**, v. 101, p. 179-184, 2000.

LIMA, E.S.; COUTO, R.D. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. **J. Bras. Patol Med. Lab.**, v. 42, n. 3; p. 169-178, 2006.

LIMA, E.S. et al. Nitrated lipids decompose to nitric oxide and lipid radicals and cause vasorelaxation. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 15, n. 4; p. 532-539, 2005.

LUSIS, et al. Atherosclerosis. **Nature**, v. 407, n. 6801, p. 233–241, 2000.

MACKNESS, B. et al. Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly Prospective Study. **Circulation**, v. 107, n. 22, p. 2775-2779, 2003.

MALERBI, D.A.; FRANCO, L.J. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69 yr. **Diabetes Care**, v.15, n.11, p. 1509-1516, 1992.

MINEO, C.; SHAUL, P.W. PON-dering differences in HDL function in coronary artery disease. **J. Clin. Invest.**, v. 121, n. 7; p. 2545-2548, 2011.

PAROMITA, K. et al. The UK Prospective Diabetes Study (UKPDS): clinical and therapeutic implications for type 2 diabetes. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, v. 48, n. 5; p. 643–648, 1999.

PERLA-KAJAN, J.; JAKUBOWSKI, H. Paraoxonase 1 protects against protein N-homocysteinylolation in humans. **Faseb J.**, v. 24, p. 931–936, 2010.

PETERS, A.L. Clinical relevance of Non-HDL cholesterol in patients with diabetes. **Clin. Diabetes**, v. 26, n. 1, p. 3-7, 2008.

PRIMO-PARMO, S.L. et al. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. **Genomics**, v. 33, n. 498–507, 1996.

SANTOS A.P. C. et al. Atherogenic índices and HDL particle size as laboratory parameters to evaluate cardiovascular risk in the presence of dyslipidemia. **J. Biophy. Chem.**, v. 5, p. 24-32, 2014.

SHE, Z.G. et al. The Human Paraoxonase Gene Cluster As a Target in the treatment of atherosclerosis. **Antioxid Redox Signal**, v. 15, n.16.6, p. 597-632, 2012.

SHEKHANAWAR, M. et al. The role of paraoxonase-1 activity as an antioxidant in coronary artery diseases. **J. Clin. Diagn. Res.**, v. 7, n. 7, p. 1284-1287, 2013.

SEMENKOVICH, C. F. et al. Insulin resistance and atherosclerosis. **J. Clin. Investig.**, v. 7, p.116, 2006.

SIEWERT, S. et al. Association of cholesteryl ester transfer protein genotypes with paraoxonase-1 activity, lipid profile and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus: A study in San Luis, Argentina. **J. Diabetes Investig.**, v. 6, n. 1, p.67–77, 2015.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2014-2015. Brasil.

SOLANO, M. P.; GOLDBERG R.B. Management of Dyslipidemia in Diabetes. **Cardiology in Review**, v. 14, n 3, p. 125-135, 2006.

STANDARDS of medical care in diabetes. **Diabetes Care**, v. 37, n. S1, p. S14-S80, 2014.

SVENSSON E. et al. Lifestyle and clinical factors associated with elevated C-reactive protein among newly diagnosed Type 2 diabetes mellitus patients: a cross-sectional study from the nationwide DD2 cohort. **BMC Endocrinol. Disord.**, v. 28, n. 14, p.74, 2014.

TANI, S. et al .Low-density lipoprotein cholesterol/apolipoprotein B ratio may be a useful index that differs in statin-treated patients with and without coronary artery disease: a case control study. **Int. Heart J.**, v. 52, n.6, p.343-347, 2011.

VIGITEL. **Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. Ministério da Saúde, 2014.

WALLDIUS, G.; JUNGNER, I. Rationale for using apolipoprotein B and apolipoprotein A-I as indicators of cardiac risk and as targets for lipid-lowering therapy. **Eur. Heart J.**, v. 26, p. 210–212, 2001.

WILSON, P.W.; ABBOTT, R.D.; CASTELLI, W.P. High density lipoprotein cholesterol and mortality. The framingham heart study. **Arteriosclerosis**, v. 8, n. 6, p. 737-741, 1988.

YANG, X. et al. Plasma homocysteine thiolactone adducts associated with risk of coronary heart disease. **Clin. Chim. Acta**, v. 364, p. 230–234, 2006.

YUSUF, S. et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. **Lancet**, v. 364, p. 937-952, 2004.

ANEXOS

Tabela a. Matriz de correlação de Pearson entre as variáveis analisadas no grupo de pacientes diabéticos masculinos – Dados Gerais.

	N-HDL-C	COLESTT	LDL	HDL	GJJ	CL	INSULINA	TGD	PON1
N-HDL-C		<u>p<0,0001</u> 0,976	<u>0,00452</u> 0,570	NS	NS	NS	NS	<u>0,02439</u> 0,440	NS
COLESTT	<u>p<0,0001</u> 0,976		<u>0,00858</u> 0,535	NS	NS	NS	NS	<u>0,04628</u> 0,394	NS
LDL	<u>0,00452</u> 0,570	<u>0,00858</u> 0,535		NS	NS	NS	NS	NS	NS
HDL	NS	NS	NS		NS	<u>0,01083</u> 0,617	NS	NS	NS
GJJ	NS	NS	NS	NS		NS	NS	NS	NS
CL	NS	NS	NS	<u>0,01083</u> 0,617	NS		NS	NS	NS
INSULINA	NS	NS	NS	NS	NS	NS		NS	NS
TGD	<u>0,02439</u> 0,440	<u>0,04627</u> 0,394	NS	NS	NS	NS	NS		NS
PON1	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	
APO-A	NS	NS	<u>0,02441</u> -0,489	<u>0,01812</u> 0,499	NS	NS	NS	NS	NS
APO-B	<u>p<0,0001</u> 0,867	<u>p<0,0001</u> 0,841	<u>0,02100</u> 0,500	<u>0,02631</u> -0,473	NS	NS	NS	<u>0,01365</u> 0,517	NS
LDL/APOB	NS	NS	<u>p<0,0001</u> 0,836	<u>0,02097</u> -0,525	NS	NS	NS	NS	NS
INSULINA	NS	NS	NS	NS	NS	NS		NS	NS
HA1C	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS
PON1/ApoA	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	<u>p<0,0001</u> 0,838
TG/HDL-C	NS	NS	NS	<u>0,00275</u> -0,563	NS	NS	NS	<u>p<0,0001</u> 0,903	NS
HDL-C/ApoA	NS	NS	NS	<u>0,01061</u> 0,533	NS	NS	NS	NS	NS

Tabela b. Matriz de correlação de Pearson entre as variáveis analisadas no grupo de pacientes diabéticos masculinos (continuação) – Dados Gerais.

	APO-A	APO-B	LDL/APOB	INSULINA	HA1C	PON1/ApoA	TG/HDL-C	HDL-C/ApoA
N-HDL-C	NS	<u>p<0,0001</u> 0,867	NS	NS	NS	NS	NS	NS
COLESTT	NS	<u>p<0,0001</u> 0,841	NS	NS	NS	NS	NS	NS
LDL	<u>0,02441</u> -0,489	<u>0,02100</u> 0,500	<u>p<0,0001</u> 0,836	NS	NS	NS	NS	NS
HDL	<u>0,01820</u> 0,499	<u>0,02631</u> -0,473	<u>0,02097</u> -0,525	NS	NS	NS	<u>0,00275</u> -0,563	<u>0,01061</u> 0,533
GJJ	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CL	NS	NS	NS	NS		NS	NS	NS
INSULINA	NS	NS	NS		NS	NS	NS	NS
TGD	NS	<u>0,01365</u> 0,517	NS	NS	NS	NS	<u>p<0,0001</u> 0,903	NS
PON1	NS	NS	NS	NS	NS	<u>p<0,0001</u> 0,838	NS	NS
APO-A		NS	<u>p<0,0001</u> -0,807	NS	NS	NS	NS	<u>0,04007</u> -0,441
APO-B	NS		NS	NS	NS	NS	<u>0,02304</u> 0,482	NS
LDL/APOB	<u>p<0,0001</u> -0,807	NS		NS	NS	NS	NS	NS
INSULINA	NS	NS	NS		NS	NS	NS	NS
HA1C	NS	NS	NS	NS		NS	NS	NS
PON1/ApoA	NS	NS	NS	NS	NS		NS	NS
TG/HDL-C	NS	<u>0,02304</u> 0,482	NS	NS	NS	NS		<u>0,03100</u> -0,461
HDL-C/ApoA	<u>0,04007</u> -0,441	NS	NS	NS	NS	NS	<u>0,03100</u> -0,461	

Tabela c. Matriz de correlação de Pearson entre as variáveis analisadas no grupo de pacientes masculinos não-diabéticos – Dados Gerais.

	N-HDL-C	COLESTT	LDL	HDL	GJJ	CL	INSULINA	TG	PON1
N-HDL-C		<i>p</i> <0,0001 0,962	0,00025 0,558	NS	NS	NS	NS	0,02095 0,327	NS
COLESTT	<i>p</i> <0,0001 0,962		0,00114 0,499	0,00064 0,491	NS	NS	NS	NS	<u>0,04447</u> 0,272
LDL	0,00025 0,558	0,00114 0,499		NS	NS	NS	NS	NS	NS
HDL	NS	0,00064 0,491	NS		NS	NS	NS	NS	NS
GJJ	NS	NS	NS	NS		NS	NS	NS	NS
CL	NS	NS	NS	NS	NS		NS	NS	NS
INSULINA	NS	NS	NS	NS	NS	NS		NS	NS
TG	0,02095 0,327	NS	NS	NS	NS	NS	NS		NS
PON1	NS	<u>0,04447</u> 0,272	NS	NS	NS	NS	NS	NS	
APO-A	NS	0,00120 0,504	NS	<i>p</i> <0,0001 0,941	NS	NS	NS	NS	NS
APO-B	<i>p</i> <0,0001 0,818	<i>p</i> <0,0001 0,768	<u>0,00054</u> 0,536	NS	NS	NS	NS	NS	NS
LDL/APOB	NS	NS	0,00192 0,489	<i>p</i> <0,0001 -0,629	NS	NS	NS	NS	NS
HA1C	NS	NS	NS	<u>0,03237</u> -0,444	NS	NS	NS	NS	<u>0,02163</u> -0,456
PON1/ApoA	NS	NS	NS	NS	NS	<u>0,00655</u> -0,499	NS	NS	<i>p</i> <0,0001 0,849
TG/HDL-C	NS	NS	NS	<i>p</i> <0,0001 -0,518	NS	NS	NS	<i>p</i> <0,0001 0,795	NS
HDL-C/ApoA	NS	NS	NS	NS	NS	<u>0,03742</u> -0,370	NS	NS	NS

Tabela d. Matriz de correlação de Pearson entre as variáveis analisadas no grupo de pacientes masculinos não-diabéticos (continuação) – Dados Gerais.

	APO-A	APO-B	LDL/APOB	HA1C	PON1/ApoA	TG/HDL-C	HDL-C/ApoA
N-HDL-C	NS	<u><i>p<0,0001</i></u> <i>0,818</i>	NS	NS	NS	NS	NS
COLESTT	<i>0,00120</i> <i>0,504</i>	<u><i>p<0,0001</i></u> <i>0,768</i>	NS	NS	NS	NS	NS
LDL	NS	<u><i>0,00054</i></u> <i>0,536</i>	<i>0,00192</i> <i>0,489</i>	NS	NS	NS	NS
HDL	<u><i>p<0,0001</i></u> <i>0,941</i>	NS	<u><i>p<0,0001</i></u> <i>-0,629</i>	<u><i>0,03237</i></u> <i>-0,444</i>	NS	<u><i>p<0,0001</i></u> <i>-0,518</i>	NS
GJJ	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CL	NS	NS	NS	NS	<u><i>0,00655</i></u> <i>-0,499</i>	NS	<u><i>0,03742</i></u> <i>-0,370</i>
INSULINA	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
TG	NS	NS	NS	NS	NS	<u><i>p<0,0001</i></u> <i>0,795</i>	NS
PON1	NS	NS	NS	<u><i>0,02163</i></u> <i>-0,456</i>	<u><i>p<0,0001</i></u> <i>0,849</i>	NS	NS
APO-A		NS	<u><i>p<0,0001</i></u> <i>-0,647</i>	NS	<i>0,00801</i> <i>-0,410</i>	<u><i>p<0,0001</i></u> <i>-0,573</i>	NS
APO-B	NS		NS	NS	NS	NS	NS
LDL/APOB	<u><i>p<0,0001</i></u> <i>-0,647</i>	NS		NS	<i>0,02648</i> <i>0,340</i>	<u><i>0,002479</i></u> <i>0,477</i>	NS
HA1C	NS	NS	NS		NS	NS	NS
PON1/ApoA	<i>0,00801</i> <i>-0,410</i>	NS	<i>0,02648</i> <i>0,340</i>	NS		NS	<i>0,00638</i> <i>0,423</i>
TG/HDL-C	<u><i>p<0,0001</i></u> <i>-0,573</i>	NS	<u><i>0,00248</i></u> <i>0,477</i>	NS	NS		NS
HDL-C/ApoA	NS	NS	NS	NS	<u><i>0,00638</i></u> <i>0,423</i>	NS	



Salvador, 28 de novembro 2011.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA / HAN / UFBA

Ofício N° 83/11

Ref. Projeto de Pesquisa - n.º 83/11

TÍTULO DO PROJETO: "Associação da Atividade PON 1 e dos Níveis de HDL com a Gravidade de Lesões Ateroscleróticas em Pacientes Diabéticos com Doença Coronariana"

Pesquisadores: Dra. Leonor Fernandes Amaral

Orientador: Dr. Roque Aras

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Ana Néri, após análise do processo de n.º 83/11, acima citado considera que o mesmo atende aos princípios éticos em pesquisa em seres humanos, segundo a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP CNS -MS). Diante do exposto julga o processo **APROVADO.**

Lembramos à necessidade do envio de relatório anual do andamento da pesquisa, dentro do cronograma citado no mesmo protocolo.

Dr. Armênio Costa Guimarães
Coordenador do CEP

Dr. Armênio Guimarães
Coord. Comitê de Ética em Pesquisa

Ilma. Pesquisadora Leonor Fernandes Amaral

Nesta

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Projeto de pesquisa: “Associação da Atividade da PON1 e dos níveis de HDL com a gravidade das lesões ateroscleróticas em pacientes diabéticos com doença coronariana”

O objetivo deste estudo é avaliar a associação da atividade da Paraoxenase 1 e dos níveis de HDL colesterol com a gravidade de lesão aterosclerótica em pacientes diabéticos com doença arterial coronariana.

Doença cardiovascular é a principal causa de óbito em pacientes diabéticos, e o risco de Infarto Agudo do Miocárdico e Acidente Vascular cerebral é cerca de três vezes maior nestes pacientes. O conhecimento dos seus fatores de riscos é de primordial importância na sua prevenção.

Informações a respeito da doença e do paciente serão respondidas durante entrevista realizada pelo pesquisador. O desconforto que poderá sentir durante a entrevista é da possibilidade de compartilhar um pouco das suas informações pessoais ou confidenciais. Contudo, não precisará responder qualquer pergunta na entrevista se você sentir que ela é muito pessoal ou se sentir incômodo ao falar. Será anotado o exame físico, o valor dos exames laboratoriais e os exames de imagem realizados.

Este estudo traz benefícios, pois possibilitará um melhor conhecimento dos fatores de risco de doença coronariana em pacientes diabéticos e do papel da enzima Paraoxonase nestas patologias.

Não haverá custos para os pacientes participantes do projeto.

Nenhuma das informações contidas no prontuário será fornecida a pessoas não envolvidas neste projeto de pesquisa sem o seu consentimento. Seu nome jamais será utilizado em trabalhos científicos ou apresentações, terá o

anonimato da sua identidade que será garantido pelo uso uma ficha identificada por uma numeração.

As informações deste estudo serão divulgadas através do projeto de pesquisa “Associação da Atividade da Paraoxonase 1 e dos níveis de HDL colesterol com a gravidade das lesões ateroscleróticas em pacientes diabéticos com doença coronariana”, sob orientação de Dr. Roque Aras Júnior, não havendo qualquer restrição em relação à divulgação pública dos resultados, sejam eles favoráveis ou não.

Sua participação neste projeto de pesquisa é voluntária e não será recebida nenhuma remuneração. O senhor (a) poderá se recusar a participar ou se retirar do projeto em qualquer momento sem que o seu atendimento médico seja suspenso ou prejudicado.

Consentimento pós-esclarecimento: declaro que fui esclarecido sobre todos os itens acima. Eu livremente concordo em participar deste projeto de pesquisa como voluntário e declaro que recebi uma cópia deste documento. Caso necessite de outras informações sobre minha participação no projeto poderei contatar Hospital Ana Nery Tel.(71) -32420525 e o pesquisador Tel.(71) 99755960

Fui esclarecido que, se tiver alguma dúvida sobre a ética da pesquisa, posso entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Ana Nery.

ASSINATURA DO PACIENTE

ASSINATURA DO PESQUISADOR(A)

Salvador,de.....de 2015

FICHA DE AVALIAÇÃO

N°

Data	
Nome	
Data de nascimento:	Idade:
Profissão:	Estado Civil
Escolaridade	
Etnia	

Diagnósticos () Diabetes () DAC

Complicações do Diabetes:

Tempo de diagnóstico	
Diabetes	
Doença Arterial Coronariana	

JÁ SOFREU IAM? () Sim () Não

SE SIM, QUANTAS VEZES?

HISTÓRIA DE TABAGISMO () Sim () Não

Medicações em uso

Medicação	Dose	Posologia	Uso Regular?

Comorbidades

Patologia	Tempo de diagnóstico

Dados do Exame físico

Peso	
Altura	
Índice de Massa Corpórea	
Circunferência abdominal	

Exames

	Data	Resultado
Atividade da PON1		
HDL		
LDL		
Colesterol total		
Hemoglobina glicada		
Triglicerídeos		

Creatinina		
Ureia		
TGO		
TGP		
Potássio		
PCR		

ELETROCARDIOGRAMA-

Data	Ritmo	FC	Alterações

ECOCARDIOGRAMA-

Data	FE	ESPESSURA	AE	VOLUME VENTRICULAR	VOLUME FINAL	DISFUNÇÃO SISTÓLOCA?
		SEPTO- PAREDE POSTERIOR-		SISTÓLICO DIASTÓLICO	DIASTÓLICO SISTÓLICO	SIM- NÃO-

Cateterismo cardíaco

Data	Local das lesões	Extensão das lesões
