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

Thauany Martins Tavoni

Metabolismo e função das lipoproteínas de alta densidade (HDL) em indivíduos idosos: efeito da presença de diabetes mellitus tipo 2 e doença coronária obstrutiva

São Paulo
2018

Thauany Martins Tavoni

Metabolismo e função das lipoproteínas de alta densidade (HDL) em indivíduos idosos: efeito da presença de diabetes mellitus tipo 2 e doença coronária obstrutiva

Versão Original

Tese para obtenção do título de DOUTOR apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

Área de concentração: Análises Clínicas

Orientador: Prof. Dr Raul Cavalcante Maranhão

São Paulo

2018

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

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

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

Tavoni, Thauany Martins
T234m Metabolismo e função das lipoproteínas de alta densidade (HDL) em indivíduos idosos: efeito da presença de diabetes mellitus tipo 2 e doença coronária obstrutiva / Thauany Martins Tavoni. -- São Paulo, 2018.
52p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.
Orientador: Maranhão, Raul Cavalcante

1. Lipídio : Bioquímica clínica 2. Lipoproteína : Metabolismo 3. Lipoproteína : Bioquímica I. T. II. Maranhão, Raul Cavalcante, orientador.

616.0756 CDD

Thauany Martins Tavoni

Metabolismo e função das lipoproteínas de alta densidade (HDL) em indivíduos idosos: efeito da presença de diabetes mellitus tipo 2 e doença coronária obstrutiva

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do Título de DOUTOR

Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão
orientador/presidente

_____
1o. examinador

_____
2o. examinador

_____
3o. examinador

_____
4o. examinador

São Paulo, _____ de _____ de 2018.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho só foi possível graças ao apoio, em diferentes aspectos, de várias pessoas. Por isso, é com muita alegria e gratidão que expresso meus sinceros agradecimentos:

Ao Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão pela orientação e suporte para o desenvolvimento deste trabalho, e pela preocupação com minha formação acadêmica e científica.

Ao Prof. Dr. Whady Armindo Hueb, Dr Paulo Cury Rezende, Marcela, Eliana, Priscila e demais membros da equipe MASS por todo apoio e dedicação dispensados.

A todos os funcionários e alunos do Laboratório de Metabolismo e Lípides do Incor pelo auxílio técnico-científico, pela amizade e pelos bons momentos de convivência.

A Dra Célia M. C. Strunz e equipe do Laboratório de Análises Clínicas do Incor pelo auxílio e dedicação prestados.

A todos os pacientes que participaram deste trabalho.

Aos docentes da Pós-Graduação em Farmácia da Universidade de São Paulo pelos ensinamentos.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade de São Paulo pelas orientações prestadas.

À FAPESP, CNPQ e CAPES pelo auxílio e apoio científico.

A todos os meus familiares e amigos por todo incentivo, carinho prestados para que este trabalho de fato se concretizasse.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO 12

2. OBJETIVOS 21

3. MÉTODOS 22

3.1 Casuística 22

3.2 Determinações bioquímicas séricas 23

3.3 Preparo da nanopartícula lipídica artificial 23

3.4 Ensaio de transferência de colesterol livre e esterificado, triglicérides e fosfolípides da nanopartícula lipídica artificial para HDL 24

3.5 Determinação do diâmetro da partícula HDL 24

3.6 Composição lipídica da HDL 25

3.7 Determinação da concentração da CETP e LCAT 25

3.8 Determinação de marcadores inflamatórios 25

3.9 Análise estatística 25

4. RESULTADOS 27

5. DISCUSSÃO 34

5.1 IDS x JOV 34

5.2 IDS x IDS-DAC 36

5.3 IDS-DAC x IDS-DAC-DM 38

6. CONCLUSÕES 40

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 41

ANEXO 53

LISTA DE ABREVIATURAS

ApoA-I	Apolipoproteína A-I
Apo B	Apolipoproteína B
CETP	Proteína de transferência de colesterol esterificado
DAC	Doença arterial coronária
DM	Diabetes mellitus tipo 2
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HGF	Fator de crescimento de hepatócito
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corpórea
LCAT	Lecitina colesterol acil transferase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos-1
NGF	Fator de crescimento nervoso
PLTP	Proteína de transferência de fosfolípides
PON1	Paraoxonase 1
TNFα	Fator de necrose tumoral alfa

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características físicas dos jovens (JOV) e idosos sem DAC e sem DM (IDS)..... 27

Tabela 2 - Glicose, lípides e apolipoproteínas dos jovens (JOV) e idosos sem DAC e sem DM (IDS)..... 28

Tabela 3 - Transferência de lípides da nanopartícula para HDL, composição lipídica e diâmetro da HDL, concentração de CETP e LCAT em jovens (JOV) e em idosos sem DAC e sem DM (IDS)..... 29

Tabela 4 - Concentração de marcadores inflamatórios dos jovens (JOV) e idosos sem DAC e sem DM (IDS)..... 30

Tabela 5 - Características físicas dos idosos sem DAC e sem DM (IDS), com DAC (IDS-DAC) e com DAC e DM (IDS-DAC-DM)..... 30

Tabela 6 - Glicose, lípides e apolipoproteínas dos idosos sem DAC e sem DM (IDS), com DAC (IDS-DAC) e com DAC e DM (IDS-DAC-DM)..... 31

Tabela 7 - Transferência de lípides da nanopartícula para HDL, composição lipídica e diâmetro da HDL, CETP e LCAT dos idosos sem DAC e sem DM (IDS), com DAC (IDS-DAC) e com DAC e DM (IDS-DAC-DM)..... 32

Tabela 8 - Concentração de marcadores inflamatórios dos idosos sem DAC e sem DM (IDS), com DAC (IDS-DAC) e com DAC e DM (IDS-DAC-DM)..... 33

RESUMO

TAVONI, T. M. Metabolismo e função das lipoproteínas de alta densidade (HDL) em indivíduos idosos: efeito da presença de diabetes mellitus tipo 2 e doença coronária obstrutiva. 2018. 52f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Introdução: A doença arterial coronária (DAC) decorrente da aterosclerose é uma das principais causas de comprometimento do envelhecimento saudável e sobrevida do idoso. Entre os principais fatores de risco da DAC estão o diabetes mellitus tipo 2 (DM) e as dislipidemias. O HDL-colesterol baixo é fator de risco importante, mas aspectos funcionais e metabólicos da HDL devem ser avaliados, já que esta lipoproteína tem várias ações anti-aterogênicas. Neste sentido, a transferência de lípides de outras lipoproteínas para a HDL, mediada pela proteína de transferência de ésteres de colesterol (CETP), é passo importante na formação e metabolismo da HDL e está relacionada com a presença de DAC. **Objetivo:** Avaliar o impacto da idade nas transferências de lípides para HDL e outros parâmetros relacionados com o metabolismo da HDL em indivíduos idosos e as mudanças nesses parâmetros em idosos com DAC e com DAC e DM. **Métodos:** Foram estudados 25 jovens (JOV), 35 idosos sem DAC e sem DM (IDS), 35 idosos com DAC (IDS-DAC) e 34 idosos com DAC e DM (IDS-DAC-DM). Foram determinados perfil lipídico e apolipoproteínas plasmáticas, concentração plasmática da CETP e da lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT), composição lipídica e diâmetro da HDL e marcadores inflamatórios. A transferência de colesterol esterificado e livre, fosfolípides e triglicérides para a HDL foi realizada por ensaio “in vitro” com uma nanopartícula marcada com lípides radioativos como partícula doadora de lípides. Após a precipitação química das outras lipoproteínas e da nanopartícula doadora, o sobrenadante contendo HDL foi separado e medida a radioatividade. **Resultados**: IDS apresentou IMC maior que JOV. LDL-colesterol e não-HDL-colesterol, IL-6 e IL-8 foram mais altos, IL-1β mais baixo e a transferência de fosfolípides para a HDL foi maior em IDS do que em JOV, mas as diferenças desapareceram quando corrigidas pelo IMC. Entre IDS-DAC e IDS não houve diferenças nos lípides plasmáticos, mas no IDS-DAC a transferência de colesterol livre, triglicérides e fosfolípides foi menor e a de colesterol esterificado foi maior. A concentração de CETP foi maior no IDS-DAC, onde houve maior % de colesterol

esterificado e triglicérides e menor % de fosfolípides na HDL. Em IDS-DAC-DM, apo B foi maior que em IDS-DAC, mas LDL-colesterol foi igual. Houve menor transferência de colesterol esterificado em IDS-DAC-DM comparado a IDS-DAC e maior de fosfolípides. IDS-DAC-DM teve CETP mais baixa e LCAT mais alta do que IDS-DAC. Em IDS-DAC-DM houve menor proporção de colesterol esterificado e livre e maior de fosfolípides na HDL. Marcadores inflamatórios não diferiram entre IDS-DAC-DM e IDS-DAC. **Conclusões:** As alterações nos parâmetros de transferência de lípides sinalizaram tanto a presença de DAC nos idosos quanto diferenciaram idosos com DAC associada a DM daqueles apenas com DAC. A redução da transferência de colesterol livre nos idosos com DAC é aterogênica, como foi mostrado em trabalho anterior em indivíduos de 40-50 anos com DAC precoce. Esses dados podem ter aplicação tanto na prevenção quanto na terapêutica da DAC, por meio de medicamentos que modulem a transferência de lípides para a HDL e assim melhorem a função anti-aterogênica desta lipoproteína.

Palavras-chave: Doença arterial coronária. Diabetes mellitus. Metabolismo de lípides. HDL.

ABSTRACT

TAVONI, T. M. Metabolism and function of high density lipoprotein (HDL) in the elderly: effects of type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. 2018. 52f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Introduction: Coronary artery disease (CAD) resulting from atherosclerosis is one of the main causes of compromised healthy aging and lifespan in elderly people. Amongst the main risk factors for CAD are type 2 diabetes mellitus (DM) and dyslipidemias. Low HDL-cholesterol is an important risk factor, but functional and metabolic aspects of HDL must be evaluated, since this lipoprotein has several anti-atherogenic actions. In this regard, lipid transfer from other lipoproteins to HDL, mediated by cholesteryl ester transfer protein (CETP), is an important step towards the formation and metabolism of HDL and is related to the presence of CAD. **Objective:** To evaluate the impact of age in lipid transfer to HDL and other parameters related to HDL metabolism in elderly individuals and the changes in these parameters in elderly individuals with CAD and with CAD and DM. **Methods:** 25 young (YOUNG), 35 elderly without CAD and DM (ELDERLY), 35 elderly with CAD (ELDERLY-CAD) and 34 elderly with CAD and DM (ELDERLY-CAD-DM) subjects were studied. The lipid profile, the apolipoprotein, CETP and lecithin–cholesterol acyltransferase (LCAT) plasma concentration, the HDL lipid composition and diameter and inflammatory markers were evaluated. The transfer of esterified and free cholesterol, phospholipids and triglycerides to HDL was assayed *in vitro* with a donor lipid nanoparticle labeled with radioactive lipids. After chemical precipitation of the other lipoproteins and the donor lipid nanoparticle, the supernatant containing HDL was separated and the radioactivity was measured. **Results:** ELDERLY presented greater BMI than YOUNG. LDL-cholesterol and non-HDL-cholesterol, IL-6 and IL-8 were higher, IL-1β was lower and phospholipid transfer to HDL was higher in ELDERLY than in YOUNG, but the differences disappeared when corrected by BMI. There were no differences in plasmatic lipids between ELDERLY-CAD and ELDERLY, but in ELDERLY-CAD the transfer of free cholesterol, triglycerides and phospholipids was lower and of esterified cholesterol was higher. CETP concentration was higher in ELDERLY-CAD, where there was higher % of esterified cholesterol and triglycerides and lower % of phospholipids in HDL. In

ELDERLY-CAD-DM, apo B was higher than in ELDERLY-CAD, but LDL-cholesterol was equal. There was lower transfer of esterified cholesterol in ELDERLY-CAD-DM compared to ELDERLY-CAD and higher transfer of phospholipids. ELDERLY-CAD-DM had lower CETP and higher LCAT than ELDERLY-CAD. In ELDERLY-CAD-DM there was a smaller proportion of esterified and free cholesterol and greater proportion of phospholipids in HDL. Inflammatory markers did not differ between ELDERLY-CAD-DM and ELDERLY-CAD. **Conclusions:** The alterations in the parameters of lipid transfer not only signalled the presence of CAD in the elderly but also differentiated the elderly with CAD and DM from those with CAD only. The reduction of free cholesterol transfer in the elderly with CAD is atherogenic, as shown in a previous work on individuals of 40-50 years of age with precocious CAD. This data may be applied both to the prevention and the therapeutics of CAD, by means of medicines that modulate lipid transfer to HDL and thus improve the anti-atherogenic function of this lipoprotein.

Keywords: Coronary artery disease. Type 2 diabetes mellitus. Lipid metabolism. HDL.

1. INTRODUÇÃO

Estima-se que a atual população mundial de 800 milhões de indivíduos acima de 60 anos, que representa 11% da população total, aumentará para 2 bilhões em 2050, passando a representar 22% (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011). Torna-se, assim, cada vez mais importante identificar fatores, tanto genéticos quanto ambientais, ligados ao envelhecimento saudável e à longevidade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004). Esse conhecimento é fundamental para o estabelecimento de hábitos, de padrões dietéticos, e desenvolvimento de fármacos que propiciem maior expectativa e qualidade de vida.

O envelhecimento é o fator de risco mais importante na incidência das doenças cardiovasculares (DCV). Dentre as DCV, a doença arterial coronária (DAC) continua sendo a principal causa de morbidade e mortalidade entre os idosos (MOZAFFARIAN et al. 2016). Sua prevalência aumenta exponencialmente com a idade, sendo maior no homem do que na mulher até a oitava década, quando se torna equivalente (PETERSON; BENSIMHON, 2003). O aumento da vulnerabilidade do idoso com DAC é consequência de vários fatores: doença coronária mais extensa e mais grave, alterações anatômicas e funcionais, com consequente diminuição da reserva cardíaca (LAKATTA; SOLLOTT, 2002; LIU et al. 2014; FERIDOONI; DIBB; HOWLETT, 2015), além do aumento da prevalência e associação dos fatores de risco cardiovascular e comorbidades (FORMAN et al., 2018). Os idosos são mais propensos a sofrer a síndrome coronariana aguda e desenvolver os eventos adversos subsequentes, incluindo insuficiência cardíaca (DHARMARAJAN; RICH, 2017)

Apesar do papel proeminente do envelhecimento como fator de risco de DAC, os mecanismos específicos que predispõem ao desenvolvimento da doença com o avanço da idade permanecem mal compreendidos. O envelhecimento leva ao remodelamento vascular, que predispõe a DAC, mesmo na ausência de fatores de risco cardiovascular. O envelhecimento pode causar alterações na dilatação, proliferação e apoptose das células musculares lisas da coronária por mudanças na resposta celular a hormônios e fatores de crescimento (ORLANDI, 2006; GOMEZ; OWENS, 2012; LACOLLEY, 2012). Além disso, a relação entre a espessura das camadas íntima-média tende a aumentar de 2 a 3 vezes dos 20 aos 90 anos (LAKATTA; LEVY, 2003; LAKATTA, 2013). O espessamento intimal associa-se ao aumento da permeabilidade arterial, que favorece a aterogênese.

A aterosclerose caracteriza-se pelo acúmulo de lípides, células inflamatórias e elementos fibrosos no espaço subendotelial da íntima (VIRCHOW, 1856; ROSS, 1986; ANITSCHKOW; CHALATOW, 1913). É decorrente do processo de reparo da lesão à camada endotelial da artéria (MONCADA et al., 1977). O processo de reparo pode ocorrer de uma maneira virtuosa, na qual a inflamação e a cicatrização se resolvem, restaurando a integridade do endotélio. No entanto, o processo de reparo da lesão pode ocorrer também por uma via prejudicial que favorece a aterogênese. Nesta via, a inflamação torna-se crônica evoluindo com depósito de lípides, principalmente colesterol, na íntima e proliferação celular, formando-se placas de ateroma que tendem a ocupar espaço no lúmen arterial (LIBBY, 2002).

Um grande avanço da Cardiologia contemporânea foi, além do entendimento da importância do processo inflamatório na aterosclerose, o conceito de placa de ateroma estável e instável. A placa estável caracteriza-se por predomínio de colágeno, organizado em capa fibrosa espessa, escassas células inflamatórias e núcleo lipídico de proporções menores. A placa instável apresenta atividade inflamatória intensa, especialmente nas bordas laterais, com grande atividade proteolítica, núcleo lipídico proeminente e capa fibrótica tênue (BURKE et al., 1997; FALK, 1999; KOLODGIE et al., 2001). Na placa instável a capa fibrótica é delgada, aparentemente devido a influxo contínuo e ativação de leucócitos que liberam metaloproteinases e outras enzimas proteolíticas nas margens da placa. Essas enzimas levam a degradação da matriz e a menor síntese de colágeno e de elastina, constituintes estruturais da capa. Isto acarreta a ruptura da placa, levando à formação de coágulo e aos acidentes tromboembólicos (SHAH et al., 1995).

O envelhecimento vascular e a aterosclerose são processos distintos, entretanto, frequentemente descritos de forma intercambiável. A base celular e molecular do envelhecimento vascular ainda não está bem estabelecida, mas tem sido associada ao estresse oxidativo e disfunção endotelial (DONATO et al., 2007; CSISZAR et al., 2008), aumento da rigidez arterial (JIANG et al., 2008), comprometimento da angiogênese (RIVARDI et al., 1999), defeito do reparo vascular (WEINSAFT; EDELBERG, 2001), e recrutamento prejudicado de células endoteliais progenitoras (CHANG et al., 2007). Observa-se ainda, no envelhecimento vascular, redução no número de células musculares lisas na camada média, acúmulo de colágeno, decorrente, em parte, do aumento de proteínas glicadas e atividade das metaloproteinases presentes na matriz (ZIEMAN; KASS, 2004; ASTRAND et al., 2011). Ademais, idosos saudáveis

frequentemente apresentam um desequilíbrio na homeostase das citocinas, caracterizado por elevados níveis de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas como, interleucina (IL)-6, IL-12, IL-1β, fator de transformação do crescimento (TGF)-β, fator de necrose tumoral (TNF)-α, MCP-1 e MIP-1α (RIANCHO et al., 1994; FORSEY et al, 2003; ALVAREZ-RODRIGUEZ et al, 2012; STARR et al., 2015) . A inflamação vascular pode contribuir para a lesão do vaso e predispor o desenvolvimento de doença vascular.

A aterosclerose pode estar presente em seus estágios iniciais ainda na juventude (STARY, 1989; STRONG et al., 1999), mas a velocidade de progressão pode variar muito. Nas décadas mais avançadas, praticamente todos os indivíduos na população geral têm aterosclerose, embora não necessariamente ocorram manifestações clínicas evidentes. Presumivelmente, a perfusão adequada dos diversos tecidos do organismo é o ponto mais crucial e determinante do envelhecimento saudável e da longevidade. Além disto, a obstrução súbita das artérias decorrente das manifestações agudas da doença vascular, como no infarto agudo de miocárdio e nos acidentes vasculares encefálicos, pode levar a condições incapacitantes que comprometem a qualidade de vida e encurtam a sobrevida (LUI; NGUYEN, 2018).. Geralmente, decorrem décadas para que se desenvolvam as lesões avançadas responsáveis pelas manifestações clínicas, como a DAC.

Dentre os fatores de risco da DAC, além do envelhecimento (KANNEL; GORDAN, 1978), estão o diabetes mellitus tipo 2 (DM) (HAFFNER et al., 1998), dislipidemias (CASTELLI et al., 1977), tabagismo (OCKENE; MILLER, 1997), hipertensão arterial sistêmica (SHEA et al, 1985), sedentarismo (KOKKINOS; SHERIFF; KHEIRBEK; 2011) e outros.

O DM tem grande prevalência na população e prejudica a qualidade de vida do idoso e a longevidade (CHO et al., 2002). A DAC é uma das principais causas de morbimortalidade em pacientes com DM, que têm risco de duas a quatro vezes maior de ocorrência de DAC (FESKENS; KROMHOUT, 1992; HAFFNER et al., 1998, EINARSON et al., 2018). A DAC cursa com maior gravidade no DM do que em indivíduos não-diabéticos, tanto pela intensidade e frequência das complicações quanto pela maior taxa de mortalidade (RANA et al., 2012). Os pacientes com DM têm DAC de progressão mais rápida, maior incidência de oclusão multiarterial e maior número de segmentos de vasos doentes em comparação com os não-diabéticos (GRANGER; CALIFF; YOUNG, 1993). A placa ateromatosa de pacientes com DM caracteriza-se por maior percentual de área de núcleo necrótico, maior área ocupada por macrófagos,

maior carga total e distal do que a placa de pacientes não-diabéticos (BURKE et al., 2004). O mecanismo pelo qual o DM causa diferenças na morfologia da placa aterosclerótica é complexo e pouco compreendido (BECKMAN; CREAGER; LIBBY, 2002).

A resistência à insulina, base fisiopatológica do DM, afeta não somente o metabolismo de carboidratos, o que resulta em hiperglicemia, mas também o metabolismo de lípides (HSEUH; LAW, 1998; BORGGREVE; DE VRIES; DULLAART, 2003), o que resulta em dislipidemia. A dislipidemia do DM caracteriza-se principalmente por hipertrigliceridemia e redução de HDL-colesterol (GRUNDY, 1995; NESTO, 2005; VERGÈS, 2009), considerados fatores pró-aterogênicos.

Dentre os fatores de risco da aterosclerose, destacam-se as alterações do metabolismo dos lípides plasmáticos, as dislipidemias (VAN DER MEER et al., 2003). Nos inúmeros estudos epidemiológicos já realizados, o perfil lipídico plasmático clássico associado à aterogênese consiste em LDL-colesterol e triglicérides elevados e HDL-colesterol diminuído (AUSTIN et al., 1990).

De uma maneira geral, o envelhecimento acompanha-se de aumento nos níveis plasmáticos de LDL-colesterol (ERICSSON et al., 1991; PINTO et al., 2001), de triglicérides, mas não há um consenso sobre os níveis de HDL-colesterol (NIKKILÄ et al., 1991; SERES et al., 2004).

Outros parâmetros do metabolismo lipídico, inclusive os funcionais, no entanto, não são rotineiramente avaliados e podem estar relacionados à aterogênese ou à proteção anti-aterogênica do organismo (ANNEMA; VON ECKARDSTEIN, 2016).

Como fatores causais das alterações de lipoproteínas que ocorrem nos indivíduos idosos, têm sido observadas mudanças na expressão de diversas proteínas – receptores, enzimas e outras proteínas- que modulam o metabolismo de lípides. Por exemplo, a redução na expressão dos receptores da LDL leva à diminuição do “clearance” plasmático da LDL. Isto tem por consequência o aumento dos níveis de LDL-colesterol e o aumento da LDL oxidada, este decorrente da exposição mais prolongada a fatores pró-oxidantes. Ademais, nota-se diminuição da atividade da paraoxonase 1 (PON1), o que também pode contribuir para o aumento da LDL-oxidada (MEHDI; RIZVI, 2012; HOLZER et al., 2013). A proteína de transferência de fosfolípides (PLTP), envolvida na troca de lípides, principalmente fosfolípides, entre as classes de lipoproteínas, está aumentada no idoso. Quanto à proteína de transferência de ésteres de colesterol (CETP),

também envolvida na troca de lípides entre lipoproteínas, é ponto de controvérsia se estaria ou não alterada pelo processo de envelhecimento (PARK et al., 2010; HOLZER et al., 2013).

A concentração do HDL-colesterol é apontada como marcador do envelhecimento saudável e longevidade. O HDL-colesterol é inversamente relacionado à DAC (BARTER; KASTELEIN; NUNN, 2003; BARTER, 2004). Entretanto, o uso de fármacos que elevam a concentração de HDL-colesterol como fibrato (KEECH et al., 2005; ACCORD STUDY GROUP, 2010), niacina (AIM-HIGH INVESTIGATORS et al., 2011; HPS2-THRIVE COLLABORATIVE GROUP, 2013) e inibidores da CETP (BARTER et al., 2007) não reduziram o risco de desenvolvimento da DAC, mesmo na terapia combinada com estatinas. A determinação isolada do HDL-colesterol traz informação apenas parcial sobre a relação da HDL com a DAC. Neste contexto, a avaliação do metabolismo e funções da HDL na presença ou ausência de DAC pode esclarecer de maneira mais abrangente a relação desta lipoproteína com a DAC, e todo o potencial protetor dessa lipoproteína.

A proteção anti-aterogênica da HDL se deve às diversas funções que esta lipoproteína exerce (MEYERS; KASHYAP, 2004). Além das clássicas funções atribuídas à HDL de esterificação e transporte reverso do colesterol (GLOMSET et al., 1966; ROTHBLAT; PHILLIPS, 2010), têm sido descritas outras ações protetoras, como atividade antioxidante (NEGRE-SALVAYRE et al., 2006; KONTUSH; CHAPMAN, 2010), anti-inflamatória, antitrombótica, vasodilatadora (BERROUGUI; MOMO; KHALIL, 2012) e antiapoptótica (SUC et al., 1997; TERASAKA et al., 2007).

A HDL inibe a oxidação da LDL possivelmente devido a proteínas presentes na HDL, como a apolipoproteína (apo) A-I, PON-1, e fosfolipase A2. A apoA-I remove alguns lípides presentes na LDL que sofrem peroxidação (GARNER et al., 1998; NAVAB et al., 2000). A PON-1 catalisa a hidrólise de ácidos graxos oxidados de fosfolípides (WATSON et al., 1995) e a fosfolipase A2 degrada fosfolípides oxidados (MARATHE; ZIMMERMAN; MCINTYRE, 2003).

A inibição da oxidação lipídica pela HDL pode reduzir a expressão de moléculas de adesão nas células endoteliais, o que reduz a adesão de macrófagos ao endotélio (NOFER et al., 2003). Em estudo com infusão de HDL reconstituída em humanos observou-se inibição da expressão da molécula de adesão leucocitária 1 nas células endoteliais, indicando possível mecanismo de ação anti-inflamatória da HDL (SHAW et al., 2008). A HDL pode ainda reduzir a expressão de citocinas e seus receptores

(BURSIL et al., 2010).

A HDL inibe a ativação e agregação plaquetária. A HDL inibe a síntese do fator de ativação plaquetária pelas células endoteliais (SUGATANI et al., 1996) e estimula a produção de óxido nítrico que é inibidor da ativação plaquetária (RIDELL et al., 1999). Além disto, a lipoproteína modula a cascata de coagulação potencializando a ação da proteína C ativada, que tem importante papel na inativação dos fatores Va e VIIIa (GRIFFIN et al., 1999).

A ação vasodilatadora da HDL decorre do aumento da síntese de óxido nítrico pela fosforilação e aumento da expressão da enzima óxido nítrico sintase nas células endoteliais (SPIEKER et al., 2002; BISOENDIAL et al., 2003). Esta ação depende da ligação de apoA-I no receptor scavenger classe B tipo I (SR-B1) presente na célula endotelial (YUHANNA et al., 2001).

A HDL protege a célula endotelial de estímulos que predispõem a apoptose como LDL oxidada (SUC et al., 1997) e TNF-α (SUGANO; TSUCHIDA; MAKINO, 2000). A HDL inibe a via de apoptose mitocondrial pela inibição da dissipação do potencial ψ, formação de espécies reativas de oxigênio e liberação de citocromo c no citoplasma. Desta forma, a lipoproteína inibe a ativação das caspases 9 e 3 que induzem a apoptose (NOFER et al., 2001). Além disso, regula negativamente a proteína pró-apoptótica Bid, e positivamente a expressão da proteína anti-apoptótica Bcl-xl (de Souza et al., 2010; RIWANTO et al., 2013).

A esterificação do colesterol no compartimento plasmático ocorre principalmente na fração HDL, que está associada a lecitina-colesterol acil-transferase (LCAT), enzima que catalisa a esterificação do colesterol (GLOMSET et al., 1966), e tem como co-fator, a apoA-I, principal proteína da HDL. A HDL também promove o transporte reverso do colesterol, onde o colesterol é retirado das células dos tecidos periféricos, transferido para a HDL, e subsequentemente captado pelo fígado e eliminado na bile. A esterificação estabiliza o colesterol no plasma e o transporte reverso é fundamental na homeostase deste composto no organismo (BERROUGUI et al., 2012).

A HDL está em constante remodelamento no plasma. A transferência de lípides de outras lipoproteínas e de células periféricas para a HDL e da HDL para outras lipoproteínas é fundamental para o metabolismo da HDL, influenciando o seu remodelamento.

A HDL é formada a partir da lipidação da apoA-I pela remoção de fosfolípides e

colesterol de tecidos hepáticos e extra-hepáticos, em um processo facilitado pelo transportador de membrana "ATP- binding cassete transporter A1" (ABCA1) (CASTRO; FIELDING, 1988). Como resultado, tem-se a formação da HDL discóide, que consiste em apolipoproteína, fosfolipídes e uma pequena quantidade de colesterol não esterificado. Essas partículas recebem o excesso de colesterol livre das células dos tecidos periféricos e da superfície das lipoproteínas ricas em triglicérides, sendo convertidas em partículas maiores esféricas (RYE & BARTER, 2014). O colesterol esterificado, por ser mais hidrofóbico que o colesterol livre, move-se para o núcleo da partícula. Esse processo evita que o colesterol volte por difusão passiva da HDL para as células periféricas (CZARNECKA & YOKOYAMA, 1996). A HDL continua a ser remodelada pela ação da CETP, PLTP e lipase hepática. Os ésteres de colesterol são transferidos para as VLDL e LDL, por ação da CETP, ou são seletivamente captados pelo fígado, em um processo dependente de receptores de ligantes de HDL, sendo o principal deles o SR-B1. Os triglicérides e fosfolípides são removidos por hidrólises catalisadas por lipases, entre as quais lipase hepática, lipase endotelial e fosfolipase A2 (RYE; BARTER, 2014).

Sabe-se que na vigência de infecções e processos inflamatórios a HDL pode ter suas funções protetoras diminuídas. A ação antioxidante está reduzida devido a menor atividade da PON1 (TANIMOTO et al., 2003; NOVAK et al., 2010). Observa-se menor expressão dos transportadores de colesterol ABCA1, ABCG1 e SR-B1 dos macrófagos, o que prejudica o efluxo de colesterol (BARANOVA et al., 2002; McGILLICUDDY et al., 2009). Há redução na atividade da LCAT, comprometendo a conversão de colesterol livre em éster de colesterol na HDL (KHOVIDUNKIT et al, 2001a). Ocorre redução de SR-B1 nos hepatócitos, o que prejudica a captação de colesterol (KHOVIDUNKIT et al., 2001b). E a remoção de triglicérides da HDL está diminuída devido a menor expressão de lipase hepática (KAWAKAMI et al., 1986).

A composição lipídica da HDL influencia o metabolismo e funções anti-aterogênicas da lipoproteína. Como exemplo, HDL rica em triglicérides compete com HDL rica em éster de colesterol pela ligação ao receptor SR-B1, o que pode comprometer a captação hepática do colesterol (GREENE; SKEGGS; MORTON , 2001). O aumento de triglicérides na composição da HDL pode, ainda, reduzir sua atividade anti-inflamatória (OTTESTAD et al., 2006), antioxidante (NOBECOURT et al., 2005) e vasodilatadora (PERSEGOL et al., 2006). Existe correlação negativa entre a quantidade de fosfolípides da HDL e a extensão da oclusão coronariana (KUNZ et al.,

1994).

Em estudos mais recentes, foi desenvolvido um método para estimar a transferência de lípides para a HDL, um processo fundamental para a lipoproteína como mencionado acima. Em ensaio *in vitro*, uma nanopartícula lipídica marcada com lípides radioativos – colesterol esterificado e livre, fosfolípides e triglicérides – é incubada com plasma total e serve de doadora de lípides para as lipoproteínas plasmáticas. A transferência dos lípides para a HDL é quantificada após contagem radioativa da fração HDL, que é isolada após precipitação química das outras frações lipoprotéicas e da nanopartícula doadora (LO PRETE et al., 2009). O processo de transferência depende da ação das proteínas de transferência – CETP e PLTP - além de outros fatores (CHAPMAN et al., 2010). Com esta abordagem metodológica, verificamos que as transferências de lípides estão alteradas na hipercolesterolemia familiar (MARTINEZ et al., 2013), DM (OLIVEIRA et al., 2012), hipotireoidismo subclínico (SIGAL et al., 2011). Em pacientes com artrite reumatóide, uma doença inflamatória sistêmica associada com risco cardiovascular, a transferência de colesterol esterificado encontra-se reduzida (POZZI et al., 2015).

Pacientes com DAC precoce (45-50 anos) apresentaram deficiência na transferência tanto da forma esterificada quanto livre do colesterol para as HDL quando comparados com indivíduos sem DAC (MARANHÃO et al., 2012). Deficiência na transferência de colesterol para as HDL pode resultar em deficiência no processo de esterificação e no transporte reverso do colesterol, com as implicações pró-aterogênicas disto decorrentes. Isto sugere que a transferência de lípides pode ser um biomarcador da DAC precoce.

A prática de treinamento físico (VAISBERG et al., 2012), a adoção de dietas vegetarianas (VINAGRE et al., 2014) e o tratamento com estatinas (LO PRETE et al, 2009), todas estas intervenções reconhecidamente de valor preventivo da aterosclerose, são capazes de modificar os parâmetros de transferência.

A DAC é uma das principais causas de morbimortalidade dos idosos (TERRY; EVANS; PENCINA, 2007; MORAN et al., 2008) e o metabolismo lipídico está intimamente relacionado ao processo aterosclerótico envolvido na DAC. Inúmeros estudos epidemiológicos demonstram uma correlação inversa entre os níveis de HDL-colesterol e a incidência de DAC, e valores mais elevados de HDL-colesterol são considerados como um marcador de longevidade. Entretanto, tem sido percebido que apenas a determinação dos níveis de HDL-colesterol não é sufuciente para avaliar o

potencial ateroprotetor da lipoproteína, sendo necessário para isso a avaliação dos seus aspectos funcionais, como por exemplo as tranferências de lípides, principalmente de colesterol, para a fração HDL. Portanto, o desenvolvimento e padronização de métodos práticos para a avaliação das funções e metabolismo da HDL é fundamental para a elucidação de mecanismos que contribuem para a prevenção da DAC no idoso.

2. OBJETIVOS

Comparar idosos com indivíduos jovens no tocante a transferências de lípides para HDL, composição lipídica, diâmetro e proteínas que interferem no seu metabolismo, tais como, CETP e LCAT e investigar se esses parâmetros diferem em idosos com e sem DAC. Investigar se idosos com DAC e DM apresentam alterações características e distintas nesses parâmetros.

3. MÉTODOS

3.1 Casuística

Os indivíduos estudados foram alocados em quatro grupos:

Grupo JOV – jovens, entre 20-30 anos, saudáveis;
Grupo IDS – idosos, com idade igual ou superior a 60 anos, sem DAC e sem DM;
Grupo IDS-DAC - idosos, com idade igual ou superior a 60 anos, com DAC e sem DM;
Grupo IDS-DAC-DM - idosos, com idade igual ou superior a 60 anos, com DAC e DM.

Os indivíduos dos grupos IDS-DAC e IDS-DAC-DM avaliados foram selecionados na Unidade de pesquisa MASS do InCor. Os indivíduos dos grupos IDS e JOV foram selecionados no ambulatório SPA do InCor. Todos foram triados a partir de exames previamente realizados de acordo com os seguintes critérios:

Critérios de inclusão:

- Indivíduos com DAC diagnosticada por cineangiocoronariografia; indivíduos sem DAC confirmado por estudo angiográfico e indivíduos com DM diagnosticada através de exames laboratoriais dentro dos critérios da Associação Americana de Diabetes.

Critérios de exclusão:

- Uso de corticoterapia, reposição hormonal ou medicamentos hipolipemiantes; hipertensão arterial grave (critério do VI Joint: pressão arterial $\geq$ 180/110 mmHg); insuficiência hepática (atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST), alanina amino transferase (ALT), gama glutamil transferase (γGT) e fosfatase alcalina acima dos valores de referência); hipotireoidismo; história prévia de acidente vascular cerebral hemorrágico, hemorragias recentes, trombocitopenia, cirurgia recente; doença oncológica ativa.

Os participantes foram orientados detalhadamente sobre os objetivos do estudo, assim como sobre todos os procedimentos envolvidos no protocolo de pesquisa. Caso o participante fizesse uso de medicamentos hipolipemiantes (estatinas), estes foram suspensos pelo médico responsável um mês antes da coleta de sangue (SPRANDEL et

al., 2015 e LAVERDY et al., 2015). Após todos os esclarecimentos, assinaram um termo de consentimento prévio. Em seguida, foram orientados a comparecer no Laboratório de Metabolismo e Lípides no Incor para uma única coleta de sangue para a realização dos testes envolvidos na pesquisa, apresentados adiante. As amostras de sangue foram obtidas dos pacientes no período da manhã, entre 7:00-9:00h, após um período de jejum de 12 horas, por punção à vácuo de veia periférica. Coletou-se um volume total de 14mL de sangue.

3.2 Determinações Bioquímicas Séricas

Os níveis plasmáticos de triglicérides e colesterol total foram determinados por método colorimétrico enzimático (Chod-Pap, Merck S.A. Indústrias Químicas, Rio de Janeiro, Brasil). O colesterol de HDL foi determinado pelo mesmo método utilizado para o colesterol total, após precipitação química das lipoproteínas que contêm apolipoproteína B, utilizando-se reagente precipitante constituído por cloreto de magnésio e ácido fosfotungstico. O valor do colesterol de LDL foi estimado pela equação de Friedewald, sendo obtido pela diferença entre o colesterol total e a somatória do colesterol de HDL e colesterol de VLDL. O colesterol de VLDL foi calculado através da divisão dos níveis plasmáticos de triglicérides por 5.

Colesterol de LDL= [colesterol total - (HDL-C + VLDL-C)]

A dosagem do colesterol livre foi realizada pelo método enzimático colorimétrico (Wako Pure Chemical Industries – EUA).

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

3.3 Preparo da nanopartícula lipídica artificial

A nanopartícula lipídica artificial foi preparada segundo a técnica descrita por Ginsburg, Small e Atkinson (1982) modificada por 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, diluídos em clorofórmio: metanol (2:1). Posteriormente, foram adicionados à mistura de lípides os isótopos ^{3}H-colesterol esterificado e ^{14}C-fosfatidilcolina ou ^{3}H-triglicérides e ^{14}C-colesterol livre. Os solventes residuais foram

então evaporados da mistura sob fluxo de nitrogênio e dessecação a vácuo, por 16h, a 4ºC. Após a adição de 10 mL de tampão tris-HCl 0,01M, pH 8, a mistura de lípides foi emulsificada por irradiação ultra-sônica, utilizando-se equipamento Branson, modelo 450A (Arruda Ultra-Som, São Paulo, Brasil) potência 125 watts, durante 3 horas, sob atmosfera de nitrogênio, com temperatura variando entre 51 a 55ºC. Para obtenção da nanopartícula lipídica artificial na faixa de diâmetro e tamanho desejados, a solução lipídica foi purificada em duas etapas de ultracentrifugação. Na primeira etapa, o material da parte superior do tubo, resultante da centrifugação a 200.000 x g por 30 minutos, a 4ºC, foi removido por aspiração (1 mL) e desprezado. Ao restante do material foi adicionado brometo de potássio (KBr) ajustando a densidade para 1,21g/mL. Após a segunda centrifugação (200.000 x g por 2 horas a 4ºC), 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 de tampão tris HCl 0,01 M, pH 8. Finalmente, a emulsão foi esterilizada por filtração em membrana Millipore de 0,22 μm de porosidade sob fluxo laminar e armazenada a 4ºC por até 15 dias.

3.4 Ensaio de transferência de colesterol livre e esterificado, triglicérides e fosfolípides da nanopartícula lipídica artificial para HDL

Uma alíquota de 200 μL de plasma dos participantes foi incubada com 50 μL da nanopartícula marcada com os lípides radioativos (oleato de colesterol-^{14}C, trioleína-^{3}H, colesterol-^{3}H e fosfolípides-^{14}C), a 37ºC, sob agitação, durante 1 hora. Após esse procedimento, foram adicionados 250 μL de reagente precipitante (0,2% Dextran/0,3 mol/L $MgCl_2$) seguida de agitação por 30 segundos e centrifugação por 10 minutos, a 3000 rpm. O infranadante, contendo a nanopartícula e as lipoproteínas plasmáticas que contém apo B, VLDL e LDL foi desprezado. O sobrenadante, contendo a HDL, foi submetido à contagem da radioatividade presente, que corresponde à transferência dos lípides radioativos da nanopartícula para a HDL do indivíduo. Calculou-se a percentagem de transferência de cada um dos lípides radioativos, considerando como 100%, a radioatividade total utilizada na incubação. Os resultados são expressos em percentagem de lípides transferidos (LO PRETE et al., 2009).

3.5 Determinação do diâmetro da partícula HDL

A HDL foi separada por precipitação química das partículas lipoprotéicas que contém apo B, através da adição de 500 µL polietilenoglicol 8000 (200g/L). O sobrenandante contendo HDL foi diluído em solução de NaCl (0,15M) e em seguida, passa em filtro Millipore 0,22 µm de diâmetro. A medida do diâmetro da HDL foi realizada por espalhamento de luz (Zetasizer Nano ZS90, Worcestershire, Reino Unido) coletados em um ângulo de 90º e 658 nm e expressos pelos resultados médio obtidos em 5 corridas de 1 minuto e 30 segundos cada (LIMA; MARANHAO, 2004).

3.6 Composição lipídica da HDL

A fração de HDL foi obtida a partir do plasma total após precipitação das lipoproteínas que contém apo B com fosfotungstato de magnésio. Triglicérides (Labtest, Minas Gerais, Brasil), colesterol livre e fosfolipídeo foram determinados utilizando-se kits comerciais (Wako, Richmond, VA, EUA). O colesterol esterificado foi calculado como a diferença entre o colesterol total e o colesterol livre da HDL multiplicado por 1,67 para ajuste do peso molecular do colesterol esterificado (BRAGDON et al., 1956).

3.7 Determinação da concentração da CETP e LCAT

A concentração de CETP e LCAT foi determinada pelo método de ELISA (ALPCO, EUA). A leitura foi realizada em leitor de microplacas (Multilabel Reader VictorTMX3, PerkinElmer, Massachusetts, EUA).

3.8 Determinação de marcadores inflamatórios

Os marcadores inflamatórios IL-1β, IL-6, IL-8, TNFα, HGF, NGF, MCP-1 foram determinados por metodologia multiplex (Milliplex, Merck – Millipore, Darmstadt, Alemanha).

3.9 Análise estatística

Variável categórica foi descrita com frequência absoluta e verificada a associação com os grupos com o teste qui-quadrado (KIRKWOOD; STERNE, 2006). Os dados descritivos foram apresentados como média ± desvio padrão para dados

paramétricos e mediana (mínimo; máximo) para dados não-paramétricos. A distribuição dos dados foi avaliada pelo teste Kolmogorov-Smirnov. O teste t-Student ou o teste Mann-Whitney foi realizado para comparar os grupos IDS e JOV (KIRKWOOD; STERNE, 2006). Os grupos IDS e JOV também foram comparados ajustando-se o IMC com uso de modelos lineares gerais com estimação de mínimos quadrados para não ser utilizada a suposição de normalidade na comparação. A comparação entre 3 grupos foi realizada com uso de análises de variâncias (ANOVA) seguidas de comparações múltiplas de Bonferroni quando detectada diferença entre os grupos ou testes Kruskal-Wallis seguidos de comparações múltiplas de Dunn para identificar entre quais grupos ocorreram as diferenças (NETER et al., 1996).

Os testes foram realizados com nível de significância de 5%.

As análises foram realizadas com uso do “software” IBM-SPSS versão 20.0.

4. RESULTADOS

Em primeira análise, comparou-se o grupo JOV (n=25) com o grupo IDS (n=35) para avaliar o efeito do envelhecimento nos parâmetros propostos.

Na tabela 1, estão descritas as características físicas dos indivíduos. Observou-se maior índice de massa corpórea (IMC) no grupo IDS em relação ao JOV (p = 0,009).

Tabela1- Características físicas dos jovens (JOV) e idosos sem DAC e sem DM (IDS).

	JOV (n=25)	IDS (n=35)	p
Sexo, (n)			0,693
Feminino	13	20	
Masculino	12	15	
Idade (anos)	25,8 ± 3,4	69,1 ± 6,3	<0,001
IMC (kg/m^2)	24,1 ± 4,1	27,5 ± 4,9	0,009

A variável categórica está representada como frequência absoluta. As variáveis contínuas estão representadas como média ± desvio padrão. IMC: índice de massa corpórea.

O grupo IDS apresentou níveis de colesterol total e de LDL maiores quando comparados com JOV (Tabela 2). Não houve diferença nos níveis de colesterol de HDL e livre, e triglicérides. Os níveis de apoA-I e B foram semelhantes entre os dois grupos.

Tabela 2 - Glicose, lípides e apolipoproteínas dos jovens (JOV) e idosos sem DAC e sem DM (IDS).

	JOV (n=25)	IDS (n=35)	p	p[§]
Glicose (mg/dL)	88 ± 7	96 ± 12	0,002	0,244
Colesterol (mg/dL)				
Total	177 ± 33	210 ± 46	0,003	0,544
LDL	106 ± 29	138 ± 45	0,003	0,715
HDL	49 ± 13	48 ± 15	0,877	0,342
Não-HDL	128 ± 36	162 ± 50	0,005	0,900
Colesterol livre (mg/dL)	48 ± 9	48 ± 13	0,951	0,072
Triglicérides (mg/dL)	107 ± 65	116 ± 48	0,290	0,550
Apolipoproteína (g/L)				
A-I	1,46 ± 0,31	1,45 ± 0,38	0,927	0,435
B	0,83 ± 0,25	0,94 ± 0,20	0,068	0,864

Dados expressos como média ± desvio padrão. [§]Resultado ajustado pelo índice de massa corpórea. LDL: lipoproteína de baixa densidade, HDL: lipoproteína de alta densidade.

A taxa de transferência de fosfolípides para a HDL foi maior nos idosos do que nos jovens. A HDL de IDS apresentou maior quantidade de colesterol livre quando comparada com JOV (Tabela 3). Não houve diferença significativa na taxa de transferência de lípides para HDL, no diâmetro da lipoproteína, e concentração de CETP e LCAT entre os grupos.

Tabela 3 - Transferência de lípides da nanopartícula para HDL, composição lipídica e diâmetro da HDL, concentração de CETP e LCAT em jovens (JOV) e em idosos sem DAC e sem DM (IDS).

	JOV (n=25)	IDS (n=35)	p	p[§]
Taxa de transferência (%)				
Colesterol esterificado	4,33 ± 0,87	4,28 ± 0,63	0,796	0,975
Colesterol livre	8,33 ± 2,03	8,37 ± 1,95	0,953	0,336
Fosfolípides	23,80 ± 1,80	25,20 ± 2,00	0,008	0,353
Triglicérides	4,74 ± 0,99	5,16 ± 0,96	0,104	0,056
Composição lipídica da HDL (%)				
Colesterol esterificado	37,3 ± 4,9	37,2 ± 5,6	0,964	0,702
Colesterol livre	5,3 ± 1,1	6,4 ± 2,2	0,025	0,052
Fosfolípides	47,0 ± 5,4	46,7 ± 6,5	0,884	0,873
Triglicérides	10,5 ± 3,3	9,7 ± 3,0	0,349	0,672
Diâmetro HDL (nm)	8,43 ± 0,79	8,56 ± 0,67	0,509	0,009
CETP (µg/mL)	2,46 ± 0,75	2,49 ± 0,89	0,882	0,396
LCAT (µg/mL)	7,78 ± 1,76	6,98 ± 1,37	0,102	0,080

Dados expressos como média ± desvio padrão. [§]Resultado ajustado pelo índice de massa corpórea. HDL: lipoproteína de baixa densidade, CETP: proteína de transferência de colesterol esterificado, LCAT: lecitina-colesterol aciltransferase.

A IL-6 e IL-8 foram estatisticamente maiores no IDS enquanto que IL-1β foi estatisticamente menor no IDS do que em JOV ($p < 0,05$), como apresentado na Tabela 4.

Após ajuste do IMC, apenas o diâmetro da HDL e a IL-6 foram estatisticamente maiores no IDS do que em JOV ($p = 0,009$ e $p = 0,029$, respectivamente) (Tabelas 3 e 4).

Tabela 4 – Concentração de marcadores inflamatórios dos jovens (JOV) e idosos sem DAC e sem DM (IDS).

	JOV (n=25)	IDS (n=35)	p	p[§]
IL-6 (pg/mL)	1,23 (0,47; 4,21)	1,52 (0,82; 18,2)	0,036	0,029
IL-8 (pg/mL)	3,45 (1,63; 52,17)	6,00 (2,52; 22,75)	<0,001	0,362
TNF-α (pg/mL)	4,55 (0,68; 7,91)	4,01 (0,58; 8,75)	0,893	0,330
IL-1β (pg/mL)	0,60 (0,37; 2,99)	0,45 (0,30; 3,26)	0,013	0,051
NGF (pg/mL)	4,11 (1,94; 8,53)	3,37 (1,73; 7,34)	0,294	0,086
HGF (pg/mL)	461 (173; 2752)	498 (17; 1664)	0,688	0,812
MCP-1 (pg/mL)	252 (45; 577)	252 (74; 577)	0,555	0,483

Dados expressos pela mediana (mínimo; máximo). [§]Resultado ajustado pelo índice de massa corpórea. IL: interleucina, TNF-α: fator de necrose tumoral-α, NGF: fator de crescimento nervoso, HGF: fator de crescimento de hepatócito, MCP-1: proteína quimiotática de monócitos-1.

Em segunda análise, comparou-se indivíduos dos grupos IDS, IDS-DAC e IDS-DAC-DM.

As características desses grupos estão descritos na Tabela 5. Não houve diferença no IMC entre os três grupos.

Tabela 5 - Características físicas dos idosos sem DAC e sem DM (IDS), com DAC (IDS-DAC) e com DAC e DM (IDS-DAC-DM).

	IDS (n=35)	IDS-DAC (n=35)	IDS-DAC-DM (n=34)	p
Sexo, (n)				0,179
Feminino	20	15	12	
Masculino	15	20	22	
Idade (anos)	69 ± 6	72 ± 6	72 ± 8	0,073
IMC (kg/m^2)	27,5 ± 4,9	26,2 ± 5,1	27,6 ± 4,3	0,409

A variável categórica está representada como frequência absoluta. As variáveis contínuas estão representadas como média ± desvio padrão. DAC: doença arterial coronária, DM: diabetes mellitus tipo 2, IMC: índice de massa corpórea.

A Tabela 6 mostra que em média o colesterol livre foi estatisticamente maior no grupo IDS-DAC-DM do que no grupo IDS (p = 0,009). Glicose e apo-B foram em média maiores no grupo IDS-DAC-DM do que nos demais grupos (p < 0,05).

Tabela 6 - Glicose, lípides e apolipoproteínas dos idosos sem DAC e sem DM (IDS), com DAC (IDS-DAC) e com DAC e DM (IDS-DAC-DM).

	IDS (n=35)	IDS-DAC (n=35)	IDS-DAC-DM (n=34)	p
Glicose (mg/dL)	96 ± 12	98 ± 10	133 ± 46***$^{\#\#\#}$	<0,001
Colesterol (mg/dL)				
Total	211 ± 46	203 ± 37	215 ± 33	0,454
LDL	139 ± 45	134 ± 34	142 ± 28	0,641
HDL	49 ± 15	46 ± 13	45 ± 10	0,412
Não-HDL	162 ± 50	157 ± 38	170 ± 31	0,404
Colesterol livre (mg/dL)	48 ± 13	50 ± 10	56 ± 12**	0,009
Triglicérides (mg/dL)	102 (54; 211)	102 (34; 267)	136,5 (56; 354)	0,134
Apolipoproteína (g/L)				
A-I	1,45 ± 0,38	1,29 ± 0,32	1,34 ± 0,18	0,093
B	0,94 ± 0,20	0,96 ± 0,22	1,09 ± 0,17**$^{\#}$	0,004

As variáveis contínuas estão representadas como média ± desvio padrão para dados paramétricos ou mediana (mínimo; máximo) para dados não paramétricos. **p<0,01 versus CTL, ***p<0,001 versus CTL, $^{\#}$p<0,05 versus DAC, $^{\#\#\#}$p<0,001 versus DAC. LDL: lipoproteína de baixa densidade, HDL: lipoproteína de alta densidade. DAC: doença arterial coronária, DM: diabetes mellitus tipo 2.

A transferência de colesterol livre, fosfolípides e triglicérides no IDS-DAC foi menor em relação ao IDS, enquanto a de colesterol esterificado foi maior no IDS-DAC (Tabela 7).

Comparando-se IDS-DAC e IDS-DAC-DM, a transferência de fosfolípides foi maior no IDS-DAC-DM, enquanto a de colesterol esterificado foi menor no IDS-DAC-DM (Tabela 7). Não houve diferença na transferência de triglicérides e colesterol livre entre IDS-DAC e IDS-DAC-DM.

Em relação a composição lipídica da HDL, IDS-DAC apresentou maior proporção de colesterol esterificado e triglicérides comparado ao IDS (Tabela 7). IDS-DAC-DM apresentou menor proporção de colesterol não esterificado em relação ao IDS.

A proporção de colesterol esterificado e livre foi menor, enquanto que a proporção de fosfolípides foi maior na HDL de IDS-DAC-DM, quando comparado a IDS-DAC (Tabela 7).

Tabela 7 - Transferência de lípides da nanopartícula para HDL, composição lipídica e diâmetro da HDL, CETP e LCAT dos idosos sem DAC e sem DM (IDS), com DAC (IDS-DAC) e com DAC e DM (IDS-DAC-DM).

	IDS (n=35)	IDS-DAC (n=35)	IDS-DAC-DM (n=34)	p
Taxa de transferência (%)				
Colesterol esterificado	4,28 ± 0,63	5,26 ± 0,73***	3,99 ± 0,83$^{\#\#\#}$	<0,001
Colesterol livre	8,37 ± 1,95	7,08 ± 1,68**	7,41 ± 1,45	0,007
Fosfolípides	25,20 ± 2,00	21,60 ± 2,40***	24,80 ± 4,70$^{\#\#\#}$	<0,001
Triglicérides	5,16 ± 0,96	4,54 ± 0,98*	4,82 ± 0,64	0,016
Composição lipídica (%)				
Colesterol esterificado	37,2 ± 5,6	42,4 ± 9,2**	38,2 ± 3,8$^{\#}$	0,003
Colesterol livre	6,4 ± 2,2	5,8 ± 2,0	4,5 ± 0,9***$^{\#\#}$	<0,001
Fosfolípides	46,7 ± 6,5	39,7 ± 10,4***	45,8 ± 3,5$^{\#\#}$	<0,001
Triglicérides	9,7 ± 3,0	12,1 ± 4,1*	11,5 ± 2,7	0,011
Diâmetro HDL (nm)	8,56 ± 0,67	8,48 ± 0,59	8,49 ± 0,52	0,851
CETP (µg/mL)	2,49 ± 0,89	3,01 ± 0,94*	2,03 ± 0,59$^{\#\#\#}$	<0,001
LCAT (µg/mL)	6,98 ± 1,37	6,45 ± 1,33	7,47 ± 1,55$^{\#}$	0,038

Dados expressos como média ± desvio padrão. *p<0,05 versus CTL, **p<0,01 versus CTL, ***p<0,001 versus CTL, $^{\#}$p<0,05 versus DAC, $^{\#\#}$p<0,01 versus DAC, $^{\#\#\#}$p<0,001 versus DAC. DAC: doença arterial coronária, DM: diabetes mellitus tipo 2, HDL: lipoproteína de baixa densidade, CETP: proteína de transferência de colesterol esterificado, LCAT: lecitina-colesterol aciltransferase.

Com relação a CETP, IDS-DAC apresentou maior concentração quando comparado ao IDS. A concentração da proteína foi semelhante nos demais grupos, como apresentado na Tabela 7. A concentração de LCAT apresentou diferença estatística apenas entre IDS e IDS-DAC-DM.

A IL-6 e TNF-α foram estatisticamente maiores no grupo IDS-DAC-DM do que no IDS ($p < 0,05$), como apresentado na Tabela 8. Os demais marcadores inflamatórios foram semelhantes em todos os grupos.

Tabela 8 – Concentração de marcadores inflamatórios dos idosos sem DAC e sem DM (IDS), com DAC (IDS-DAC) e com DAC e DM (IDS-DAC-DM).

	IDS (n=35)	IDS-DAC (n=35)	IDS-DAC-DM (n=34)	p
IL-6 (pg/mL)	1,52 (0,82; 18,2)	2,38 (0,94; 28,26)	3,73 (1,48; 31,65)*	0,004
IL-8 (pg/mL)	6,00 (2,52; 22,75)	5,85 (2,89; 15,22)	6,20 (2,66; 41,60)	0,984
TNF-α (pg/mL)	4,01 (0,58; 8,75)	6,31 (1,04; 14,47)	7,52 (1,73; 42,66)*	0,001
IL-1β (pg/mL)	0,45 (0,30; 3,26)	0,40 (0,26; 1,45)	0,42 (0,26; 36,29)	0,216
NGF (pg/mL)	3,37 (1,73; 7,34)	3,82 (0,72; 16,83)	3,82 (1,94; 261)	0,708
HGF (pg/mL)	498 (17; 1664)	699 (113; 2035)	657 (225; 1935)	0,164
MCP-1 (pg/mL)	252 (74; 577)	386 (138; 622)	322 (23; 954)	0,219

Dados expressos pela mediana (mínimo; máximo). *p<0,05 versus CTL. DAC: doença arterial coronária, DM: diabetes mellitus tipo 2, IL: interleucina, TNF-α: fator de necrose tumoral-α, NGF: fator de crescimento nervoso, HGF: fator de crescimento de hepatócito, MCP-1: proteína quimiotática de monócitos-1.

5. DISCUSSÃO

5.1 IDS x JOV

No presente estudo, LDL-colesterol e não-HDL-colesterol foram maiores em IDS do que em JOV. O aumento do LDL-colesterol no idoso foi documentado no estudo Framingham, no qual se verificou que o LDL-colesterol aumenta gradualmente com a idade (ABBOTT et al. 1983).

O envelhecimento é acompanhado, frequentemente, de mudanças no metabolismo do colesterol, entre as quais o aumento do LDL-colesterol é a mais conhecida. É decorrente da redução do número de receptores da LDL no fígado, levando a diminuição do "clearance" plasmático da LDL. A redução do número destes receptores no idoso pode estar associado a aumento da proproteína convertase subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9), responsável pela degradação dos receptores de LDL (CUI et al. 2010; DUBUC et al. 2010), ou à redução da síntese de ácidos biliares. Menor síntese de ácidos biliares resulta em menor utilização do colesterol hepático. Assim, quantidades menores de colesterol são necessárias para a manutenção do estoque hepático, havendo regulação negativa dos receptores de LDL e aumento de LDL-colesterol plasmático (EINARSSON et al. 1985; BERTOLOTTI et al. 2007). Entretanto, outros mecanismos ligados ao extremamente complexo processo de envelhecimento podem estar operantes.

Neste trabalho, a concentração plasmática de apo B tendeu a estar maior no grupo IDS, mas a diferença não atingiu significância estatística. A apo B é marcador das partículas das lipoproteínas da cascata VLDL a LDL e apenas uma molécula de apo B está presente em cada partícula de VLDL, IDL e LDL. Assim, quando ocorre aumento do LDL-colesterol, espera-se que haja aumento da apo B, exceto se houver redução da VLDL e IDL ou a quantidade de colesterol em cada partícula da LDL aumente sem que haja aumento do número de partículas da lipoproteína na circulação. O fato de não ter havido diferença estatisticamente significante ($p=0,068$) entre IDS e JOV pode ter sido devido ao tamanho da amostragem.

Não houve diferença estatística no HDL-colesterol entre os grupos IDS e JOV. Ao contrário do que acontece com o LDL-colesterol, onde está bem estabelecido o aumento deste parâmetro em idosos, é controversa a relação dos níveis de HDL-colesterol com a idade dos indivíduos. O HDL-colesterol no idoso tem sido descrito na

literatura como mais baixo (FERRARA; BARRETT-CONNOR; SHAN, 1997), mais alto (NIKKILÄ et al., 1991), ou igual (SERES et al., 2004) ao dos indivíduos mais jovens. Provavelmente, essas diferenças se devam não só a fatores ambientais ou genéticos mas também à faixa etária do grupo de indivíduos mais idosos e dos mais jovens analisada em cada trabalho (TAKEUCHI et al., 1983; NEWSCHAFFER; BUSH; HALE, 1992). É interessante notar que não tenha havido diferenças entre IDS e JOV também no tocante à concentração de apo A-I que, embora presente também nas VLDL e IDL, é principalmente marcador da HDL. Portanto, os resultados de apo A-I provêem confirmação dos resultados de HDL-colesterol, iguais entre os dois grupos.

Comparando os dados de transferência *in vitro* de lípides das nanopartículas doadoras para a fração HDL, encontramos diferença apenas na tranferência dos fosfolípides, que foi maior no grupo IDS do que no JOV sendo iguais as transferências de colesterol esterificado e livre e a de triglicérides. A interpretação destes resultados é difícil, tendo em vista que as transferências de lípides entre lipoproteínas é bidirecional. Portanto, o fato de a transferência de fosfolípides para HDL estar aumentada não significa que a fração HDL do grupo IDS fique enriquecida em fosfolípides. Aliás, não houve aumento da % de fosfolípides na HDL de IDS. Deve-se ressaltar, por outro lado, que foi reportado que a ação da PLTP, que estimula a transferência de fosfolípides, está aumentada no idoso (HOLZER et al., 2013), embasando o nosso achado.

O fato de não haver diferenças entre IDS e JOV no referente às transferências para a HDL de colesterol esterificado e triglicérides se coaduna com o fato de não ter sido observado entre os dois grupos diferenças na concentração da CETP, a proteína que media a transferência destes dois lípides.

A composição lipídica da fração HDL diferiu entre IDS e JOV apenas no que se refere ao % de colesterol livre, que foi maior em IDS, achado de interpretação difícil. Os dados da literatura a esse respeito são escassos e contraditórios: Takeuchi et al. (1983) não observaram diferença na composição lipídica da HDL entre jovens, de 20-30 anos e idosos de 60-70 anos, e Holzer et al. (2013), pelo contrário, observaram menor quantidade de colesterol livre na HDL de idosos. Digno de nota é o achado de que a concentração da LCAT, a enzima de esterificação do colesterol, não diferiu entre IDS e JOV.

A inflamação crônica determina alterações no metabolismo plasmático de lípides, exemplicada pelo efeito inibitório do TNF- α sobre a atividade da lipase

lipoproteica, uma das enzimas mais importantes nesse metabolismo, já que promove a hidrólise dos triglicérides das VLDL e quilomícron. A inflamação crônica tem sido associada a aumento de triglicérides, consentâneo com a redução da atividade da lipase lipoproteica e redução do HDL-colesterol, e a alteração da composição protéica e lipídica da HDL (FEINGOLD; GRUNFELD, 2016).

É característica clássica no idoso o aumento de um processo inflamatório basal, no qual o aumento da concentração das citocinas pró-inflamórias é proeminente (ALVAREZ-RODRIGUEZ et al., 2012; MICHAUD et al., 2013). De fato, no presente trabalho, IDS apresentou maiores níveis de IL-6 e IL-8 do que JOV, o que está de acordo com descrições prévias na literatura (DEVAUX et al., 1997; ALVAREZ-RODRIGUEZ et al., 2012), embora aqui não tenhamos encontrado diferenças entre os dois grupos nos níveis de TNF-α, como também descrito por Donato et al., 2008, e os níveis de IL-1β foram até menores em IDS do que em JOV, contrariando os resultados de Sansoni et al. (2008) e Alvarez-Rodriguez et al. (2012).

Um outro ponto importante na interpretação de nossos dados foi o fato do IMC de IDS ter sido maior do que o de JOV. Após ajuste estatístico pelo IMC dos parâmetros metabólicos determinados nesse estudo, observou-se que o perfil lipídico plasmático de IDS passou a não diferir do apresentado por JOV. O ajuste pelo IMC também resultou em mudanças na comparação entre IDS e JOV relacionadas à transferência de lípides e diferenças na concentração de IL-8 e IL-1β, que desapareceram com o ajuste. Esta análise mostra o grande impacto do progressivo aumento de peso à medida que o indivíduo vai envelhecendo, uma tendência geral na população.

5.2 IDS x IDS-DAC

É marcante nos resultados deste estudo, ao contrário do esperado, que não tenha havido diferenças estatisticamente significantes entre os grupos IDS e IDS-DAC quanto ao LDL-colesterol, não-HDL-colesterol e triglicérides, parâmetros pró-aterogênicos. Quanto ao HDL-colesterol, de ação anti-aterogênica, também não diferiu entre os dois grupos. Uma possível explicação para este achado é que o grupo IDS, apesar de não ter história das manifestações da DAC, tinha tendência a parâmetros lipídicos um tanto fora da faixa de normalidade.

O fato de os lípides plasmáticos não terem diferido entre IDS e IDS-DAC, torna-se elemento facilitador da análise das transferências *in vitro* de lípides, de vez que a

concentração diferente dos lípides plasmáticos pode influenciar os resultados do teste in vitro. Por exemplo, concentração de HDL-colesterol mais alta em um grupo pode facilitar a transferência dos lípides para a HDL, por lei de ação de massas, mascarando os outros fatores determinantes da transferência, como as proteínas de transferência, CETP e PLTP e composição da HDL, entre outros fatores.

Neste contexto onde as concentrações de lípides plasmáticos foram semelhantes nos dois grupos, ganha relevo como fator preditor o achado de que a transferência de colesterol livre para a HDL tenha sido menor no grupo IDS-DAC do que em IDS. Um resultado na mesma direção foi encontrado em estudo anterior no qual se comparou indivíduos normolipidêmicos com DAC precoce, de idade entre 45-50 anos com grupo controle da mesma faixa etária sem DAC. Nos indivíduos com DAC precoce, a transferência do colesterol livre para as HDL foi menor do que nos controles (MARANHÃO et al., 2012).

A diminuição da transferência de colesterol livre para a HDL pode diminuir o processo de esterificação de colesterol. Na fração HDL reside o grande sítio de esterificação no compartimento plasmático, porque nesta fração se encontra a LCAT e a apo A-I, o co-fator desta enzima e principal apo da HDL. A diminuição da disponibilidade do substrato, já que transferência de colesterol livre para a HDL está diminuída, resulta na diminuição do produto, os ésteres de colesterol. Pode presumir-se que o colesterol livre que fica retido nas outras frações lipoproteica, onde a presença de LCAT e apo A-I é reduzida, possa precipitar-se nos vasos sanguíneos e células circulantes no plasma. No caso da artéria, enriquecimento do endotélio com colesterol pode ser estopim para fenômenos iniciais da aterogênese, dado a grande importância do colesterol na fluidez das membranas celulares e função das proteínas de membrana (SANTOS et al., 2003; COUTO et al., 2007; MARANHÃO; FREITAS, 2014).

Além da menor transferência de colesterol livre, observou-se também maior tranferência de colesterol esterificado e menor transferência de triglicérides no grupo IDS-DAC do que no IDS. Coincidentemente, a concentração de CETP foi maior no grupo IDS-DAC do que no IDS, o que pode ter influenciado a maior transferência de colesterol esterificado para a HDL do IDS-DAC. A maior transferência de colesterol esterificado traduziu-se, neste caso, em maior proporção deste composto na composição lipídica da fração HDL do grupo IDS-DAC do que em IDS. Ao mesmo tempo, a menor transferência de fosfolípides para a HDL do grupo IDS-DAC resultou em menor conteúdo de fosfolípides na composição da HDL daquele grupo, comparado com IDS. É

digno de nota mencionar que, apesar dessas diferenças de transferência de lípides e composição da HDL entre IDS-DAC e IDS, o tamanho das partículas de HDL não diferiu.

No que se refere aos fatores inflamatórios plasmáticos, não houve diferença entre os grupos IDS-DAC e IDS nos valores de IL-6, IL-8, IL-1β, TNF-α, MCP-1, HGF e NGF. Embora haja alterações nesses fatores determinados em fragmentos das artérias afetadas, onde têm papel importante na gênese e progressão da aterosclerose, alterações sistêmicas nem sempre são observadas. A literatura pertinente aos idosos é escassa. Kritchevsky, Cesari e Pahor (2003) descreveram diferenças entre idosos com e sem DAC. reportando valores maiores de IL-6 e TNF-α nos idosos com DAC, mas Clarke et al. (2018) não confirmaram o aumento de TNF-α, IFN-γ ou PCR. Apenas IL-6 e IL-5 estavam aumentados nos idosos com DAC. A faixa etária desses dois estudos é parecida com a dos participantes do presente trabalho.

5.3 IDS-DAC X IDS-DAC-DM

Tendo em vista que o DM é um fator de risco muito potente para DAC, cuja presença deflagra fatores de risco de grande importância, como a hipertrigliceridemia e a redução do níveis de HDL-colesterol, no que constitui a típica dislipidemia do paciente diabético, a elucidação das diferenças metabólicas associadas com DAC com e sem a presença de DM é muito importante. No entanto, é surpreendente a escassez de trabalhos na literatura que focaram esta abordagem comparativa direta. É marcante que, no presente trabalho, os níveis de HDL-colesterol e triglicérides, onde classicamente ocorre a dislipidemia do DM, não haja diferenças entre os grupos IDS-DAC e IDS-DAC-DM. Tani et al. (2017) não encontraram diferença na trigliceridemia, mas o HDL-colesterol foi menor no grupo de idosos com DAC e DM do que no de idosos com DAC sem DM. Os valores de LDL-colesterol e apo B não foram diferentes no estudo de Tani et al. (2017). Já no presente estudo encontrou-se LDL-colesterol igual nos dois grupos e apo B maior no grupo IDS-DAC-DM, sugerindo tendência a maior percentual dos subtipos de LDL pequena e densa que, é sabido, têm maior potencial aterogênico.

Houve várias diferenças nas transferências de lípides para a HDL entre IDS-DAC-DM e IDS-DAC. A transferência de colesterol esterificado foi menor em IDS-DAC-DM do que em IDS-DAC, coadunando-se com concentração mais baixa de CETP em IDS-DAC-DM e menor conteúdo de éster de colesterol na composição da fração

HDL. Realmente, menor concentração de CETP pode levar a menor passagem de colesterol das lipoproteínas doadoras para HDL, resultando em menor % de éster de colesterol nessa fração lipoproteica. No entanto, não houve diferença entre IDS-DAC-DM e IDS-DAC na transferência de colesterol livre para a HDL. Havia sido previamente documentado que transferência diminuída de colesterol livre associa-se com a presença de DAC, tanto em pacientes com DAC precoce (MARANHÃO et al. 2012) quanto em pacientes com DAC e DM (SPRANDEL et al., 2015). Outras diferenças potencialmente importantes entre IDS-DAC-DM e IDS-DAC, mas de difícil interpretação, residem no menor conteúdo de colesterol livre na fração HDL do grupo IDS-DAC-DM e aumento na concentração de LCAT no plasma.

Quanto ao processo inflamatório, de acordo com os trabalhos prévios, está exacerbado no DM em comparação com indivíduos sem DM e sadios, o que foi confirmado aqui comparando-se os fatores pró-inflamatórios de IDS-DAC-DM com os do grupo IDS. No entanto, não houve diferenças entre IDS-DAC-DM e IDS-DAC em nenhum dos fatores inflamatórios determinados no estudo.

6. CONCLUSÕES

Nos idosos (grupo IDS) houve valores mais altos de LDL-colesterol e não-HDL colesterol do que nos jovens, considerados fatores pró-aterogênicos e de alguns fatores inflamatórios. No entanto, quando corrigidas pelo IMC, que foi maior nos idosos, as diferenças desapareceram. Isto sugere a importância preventiva de se manter o peso até idade mais avançada.

Não houve diferenças importantes no fenômeno de transferência de lípides para a HDL entre idosos (IDS) e jovens.

Entre idosos sem DAC (IDS) e com DAC (IDS-DAC) não houve diferenças nos lípides plasmáticos, mas houve diferenças nas transferências de lípides, concentração de CETP e composição da HDL, mostrando a eventual importância desses marcadores não-convencionais como preditores e até alvos terapêuticos da doença.

Não houve diferenças nos lípides plasmáticos entre idosos com DAC com (IDS-DAC-DM) e sem DM (IDS-DAC), entretanto houve diferenças nas transferências de lípides, concentração de CETP e LCAT, composição lipídica da HDL. Este achado pode ser importante na interpretação da fisiopatologia e prevenção da DAC do DM2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, R.D. et al. Joint distribution of lipoprotein cholesterol classes. The Framingham study. **Arteriosclerosis**. v.3, n. 3, p. 260-272, 1983.

ACCORD STUDY GROUP et al. Effects of combination lipid therapy in type 2 diabetes mellitus. **The New England Journal of Medicine**. v. 362, n. 17, p. 1563-1574, 2010.

AIM-HIGH INVESTIGATORS et al. Niacin in patients with low HDL cholesterol levels receiving intensive statin therapy. **The New England Journal of Medicine**. v. 365, n. 24, p. 2255-2267, 2011.

ALVAREZ-RODRIGUEZ, L. et al. Aging is associated with circulating cytokine dysregulation. **Cellular Immunology**. v. 273, n. 2, p. 124-132, 2012.

ANITSCHKOW, N.; CHALATOW, S. Ueber experimentelle Cholester-insteatose und ihre Bedeutung fuer die Entstehung einiger pathologischer Prozesse. **Zentrblatt Allgemeinen Pathologie Pathologischen Anatomie**. v. 24, p. 1-9, 1913.

ANNEMA, W.; VON ECKARDSTEIN, A. Dysfunctional high-density lipoproteins in coronary heart disease: implications for diagnosticsand therapy. **Translational Research: the journal of laboratory and clinical medicine**. v. 173, p. 30-57, 2016.

ASTRAND, H. et al. In vivo estimation of the contribution of elastin and collagen to the mechanical properties in the human abdominal aorta: effect of age and sex. **Journal of Applied Physiology**. v.110, n. 1, p. 176-187, 2011.

AUSTIN, M.A. et al. Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. **Circulation**. v. 82, n. 2, p. 495-506, 1990.

BARANOVA, I. et al. Lipopolysaccharide down regulates both scavenger receptor B1 and ATP binding cassette transporter A1 in RAW cells. **Infection and Immunity**. v. 70 p. 2995-3003, 2002.

BARTER, P.; KASTELEIN, J.; NUNN, A. High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis, the unanswered questions. **Atherosclerosis**. v. 168, n. 2, p. 195-199, 2003.

BARTER, P.J. et al. Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary events. **The New England Journal of Medicine**. v. 357, n. 21, p. 2109-2122, 2007.

BARTER, P.J. HDL: A recipe for longevity. **Atherosclerosis**. v. 5, n. 2, p. 25-29, 2004.

BECKMAN, J.A.; CREAGER, M.A.; LIBBY, P. Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. **JAMA**. v. 287, n. 19, p. 2570-2581, 2002.

BERROUGUI, H.; MOMO, C.N.; KHALIL, A. Health benefits of high-density lipoproteins in preventing cardiovascular diseases. **Journal of Clinical Lipidology**. v.

6, n. 6, p. 524-533, 2012.

BERTOLOTTI, M. et al. Age-related changes in bile acid synthesis and hepatic nuclear receptor expression. **European Journal of Clinical Investigation**. v. 37, n. 6, p. 501-508, 2007.

BISOENDIAL, R.J. et al. Restoration of endothelial function by increasing high-density lipoprotein in subjects with isolated low high-density lipoprotein. **Circulation**. v. 107, p. 2944-2948, 2003.

BORGGREVE, S.E.; DE VRIES R.; DULLAART, R.P. Alterations in high-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus: role of lipolytic enzymes, lecithin:cholesterol acyltransferase and lipid transfer proteins. **European Journal of Clinical Investigation**. v. 33, n. 12, p. 1051-1069, 2003.

BRAGDON, J.H. et al. Lipid nomenclature: recommendations regarding the reporting of serum lipids and lipoproteins made by the Committee on Lipid and Lipoprotein Nomenclature of the American Society for the Study of Arteriosclerosis. **Circulation Research**. v. 4, p. 129, 1956.

BURKE, A.P. et al. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. **The New England Journal of Medicine**. v. 336, n. 18, p.1276-1282, 1997.

BURKE, A.P. et al. Morphologic findings of coronary atherosclerotic plaques in diabetics: A postmortem study. **Arteriosclerosis, Thrombosis Vascular Biology**. v. 24, n. 7, p. 1266-1271, 2004.

BURSILL, C.A. et al. High-density lipoproteins suppress chemokines and chemokine receptors in vitro and in vivo. **Arteriosclerosis, Thrombosis Vascular Biology**. v. 30, p. 1773-1778, 2010.

CASTELLI, W.P. et al. HDL cholesterol and other lipids in coronary heart disease. The cooperative lipoprotein phenotyping study. **Circulation**. v. 55, n. 5, p. 767-762, 1977.

CASTRO, G.R.; FIELDING, C.J. Early incorporation of cell-derived cholesterol into pre-beta-migrating high-density lipoprotein. **Biochemistry**. v. 12, n. 27, p. 25-29, 1988.

CHANG, E.I. et al. Age decreases endothelial progenitor cell recruitment through decreases in hypoxia-inducible factor 1alpha stabilization during ischemia. **Circulation**. v.116, n. 4, p. 2818-2829, 2007.

CHAPMAN, M.J. et al. Cholesteryl ester transfer protein: at the heart of the action of lipid-modulating therapy with statins, fibrates, niacin, and cholesteryl ester transfer protein inhibitors. **European Heart Journal**. v. 31, p. 149-164, 2010.

CHO, E. et al. The impact of diabetes mellitus and prior myocardial infarction on mortality from all causes and from coronary heart disease in men. **Journal of the**

American College of Cardiology. v. 40, n. 5, p. 954-960, 2002.

CLARKE, R. et al. Plasma cytokines and risk of coronary heart disease in the PROCARDIS study. **Open Heart**. v.5, n.1, e000807, 2018.

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.

CSISZAR, A. et al. Inflammation and endothelial dysfunction during aging: role of NF-kappaB. **Journal of Applied Physiology (1985)**. v. 105, n. 4, p. 1333-1341, 2008.

CUI, Q. et al. Serum PCSK9 is associated with multiple metabolic factors in a large Han Chinese population. **Atherosclerosis**. v. 213, n. 2, p. 632-636, 2010.

de SOUZA, J.A. et al. Small, dense HDL 3 particles attenuate apoptosis in endothelial cells: Pivotal role of apolipoprotein A-I. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**. v.14, p. 608-620, 2010.

DEVAUX, B. et al. Upregulation of cell adhesion molecules and the presence of low grade inflammation in human chronic heart failure. **European Heart Journal**. v. 18, n. 3, p. 470-479, 1997.

DHARMARAJAN, K.; RICH, M.W. Epidemiology, Pathophysiology, and Prognosis of Heart Failure in Older Adults. **Heart Fail Clin**. v.13, n. 3, p. 417-426, 2017.

DONATO, A.J. et al. Direct evidence of endothelial oxidative stress with aging in humans: relation to impaired endothelium dependent dilation and upregulation of nuclear factor-kappaB. **Circulation Research**. v. 100, n. 11, p. 1659-1666, 2007.

DONATO, A.J. et al. Aging is associated with greater nuclear NF kappa B, reduced I kappa B alpha, and increased expression of proinflammatory cytokines in vascular endothelial cells of healthy humans. **Aging Cell**. v. 7, n. 6, p. 805-812, 2008.

DUBUC, G. et al. A new method for measurement of total plasma PCSK9: clinical applications. **Journal of Lipid Research**. v. 51, n. 1, p. 140-149, 2010.

EINARSON, T.R. et al. Prevalence of cardiovascular disease in type 2 diabetes: a systematic literature review of scientific evidence from across the world in 2007-2017. **Cardiovascular Diabetology**. v. 17, n. 1, p. 83, 2018.

EINARSSON, K. et al. Influence of age on secretion of cholesterol and synthesis of bile acids by the liver. **The New England Journal of Medicine**. v. 313, n. 5, p. 277-282, 1985.

ERICSSON, S. et al. Influence of age on the metabolism of plasma low density lipoproteins in healthy males. **The Journal of Clinical Investigation**. v. 87, n. 2, p. 591-596, 1991.

FEINGOLD, K.R.; GRUNFELD, C. Effect of inflammation on HDL structure and

function. **Current Opinion in Lipidology**. v. 27, n. 5, p. 521-530, 2016.

FERIDOONI, H.A.; DIBB, K.M.; HOWLETT, S. How cardiomyocyte excitation, calcium release and contraction become altered with age. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**. v. 83, p. 62-72, 2015.

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.

FESKENS, E.; KROMHOUT, D. Glucose tolerance and the risk of cardiovascular disease: the Zutphen Study. **Journal of Clinical Epidemiology**. v. 45, n. 11, p. 1327-1334, 1992.

FORMAN, D.E. et al. Multimorbidity in Older Adults With Cardiovascular Disease. **J Am Coll Cardiol**. v. 71, n. 19, p. 2149-2161, 2018.

FORSEY, R.J. et al. Plasma cytokine profiles in elderly humans. **Mechanisms of Ageing and Development**. v. 124, n. 4, p. 487-493, 2003.

GARNER, B. et al. Oxidation of high density lipoproteins. I. Formation of methionine sulfoxide in apolipoproteins AI and AII is an early event that accompanies lipid peroxidation and can be enhanced by alpha-tocopherol. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 273, p. 6080-6087, 1998.

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

GLOMSET, J. A. et al. Role of plasma lecithin: cholesterol acyltransferase in the metabolism of high density lipoproteins. **Journal of Lipid Research**. v. 7, p. 639, 1966.

GOMEZ, D.; OWENS, G.K. Smooth muscle cell phenotypic switching in atherosclerosis. **Cardiovascular Research**. v. 95, p. 156-164, 2012.

GRANGER, C.B.; CALIFF, R.M.; YOUNG, S. Outcome of patients with DM2 mellitus and acute myocardial infarction treated with thrombolytic agents. The Thrombolysis and Angioplasty in Myocardial Infarction (TAMI) Study Group. **Journal of the American College of Cardiology**. v.21, n. 4, p. 920-925, 1993.

GREENE, D.J.; SKEGGS, J.W.; MORTON, R.E. Elevated triglyceride content diminishes the capacity of high density lipoprotein to deliver cholesteryl esters via the scavenger receptor class B type I (SR-BI). **The Journal of Biological Chemistry**. v. 276, p. 4804-4811, 2001.

GRIFFIN, J.H. et al. High-density lipoprotein enhancement of anticoagulant activities of plasma protein S and activated protein C. **The Journal of Clinical Investigation**. v. 103, n. 219-227, 1999.

GRUNDY, S.M. Atherogenic dyslipidemia: lipoprotein abnormalities and implications

for therapy. **The American Journal of Cardiology**. v.75, p.45-52, 1995.

HAFFNER, S.M. et al. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. **The New England Journal of Medicine**. v. 339, n. 4, p. 229-234, 1998.

HAFFNER, S.M. et al. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. **The New England Journal of Medicine**. v. 339, n. 4, p. 229-234, 1998.

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

HPS2-THRIVE COLLABORATIVE GROUP. HPS2-THRIVE randomized placebo-controlled trial in 25 673 high-risk patients of ER niacin/laropiprant: trial design, pre-specified muscle and liver outcomes, and reasons for stopping study treatment. **European Heart Journal**. v. 34, n. 17, p. 1279-1291, 2013.

HSEUH, W.A.; LAW, R.E. Cardiovascular risk continuum: implications of insulin resistance and DM2. **The American Journal of Medicine**. v.105, p.4-14, 1998.

JIANG, L. et al. Increased aortic calpain-1 activity mediates age-associated angiotensin II signaling of vascular smooth muscle cells. **PLoS One**. v. 3, n. 5, e2231, 2008.

KANNEL, W. B.; GORDAN, T. Evaluation of cardiovascular risk in the elderly: the Framingham study. **Bulletin of the New York Academy of Medicine**. v. 54, n. 6, p. 573-591, 1978.

KAWAKAMI, M. et al. Lipid metabolism in endotoxic rats: decrease in hepatic triglyceride lipase activity. **Microbiology and Immunology**. v. 30, p. 849-854, 1986.

KEECH, A. et al. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial. **Lancet**. v. 366, n. 9500, p.1849-1861, 2005.

KHOVIDHUNKIT, W. et al. Cholesterol efflux by acute-phase high density lipoprotein: role of lecithin: cholesterol acyltransferase. **Journal of Lipid Research**. v. 42, n. 6, p. 967-975, 2001a.

KHOVIDHUNKIT, W. et al. Regulation of scavenger receptor class B type I in hamster liver and Hep3B cells by endotoxin and cytokines. **Journal of Lipid Research**. v. 42, p. 1636-1644, 2001b.

KIRKWOOD, B. R.; STERNE, J. A. C. **Essential medical statistics**. 2nd ed. Massachusetts: Blackwell Science, 2006. p.502.

KOKKINOS, P.; SHERIFF, H.; KHEIRBEK, R. Physical inactivity and mortality risk. **Cardiology Research and Practice**. v.2011, 924945, 2011.

KOLODGIE, F.D; et al. The thin-cap fibroatheroma: A type of vulnerable plaque: The

major precursor lesion to acute coronary syndromes. **Current Opinion in Cardiology**. v. 16, n. 5, p. 285-292, 2001.

KONTUSH, A.; CHAPMAN, M.J. Antiatherogenic function of HDL particle subpopulations: focus on antioxidative activities. **Current Opinion in Lipidology**. v. 21, n. 4, p. 312-318, 2010.

KRITCHEVSKY, S.B.; CESARI, M.; PAHOR, M. Inflammatory markers and cardiovascular health in older adults. **Cardiovasc Res**. v.66, p. 265-275, 2005.

KUNZ, F. et al. HDL and plasma phospholipids in coronary artery disease. **Arteriosclerosis and Thrombosis: a journal of vascular biology**. v. 14, n. 7, p. 1146-1150, 1994.

LACOLLEY, P. et al. The vascular smooth muscle cell in arterial pathology: a cell that can take on multiple roles. **Cardiovascular Research**. v. 95, p. 194-204, 2012.

LAKATTA, E.G. The reality of aging viewed from the arterial wall. **Artery Research**. v. 7, n. 2, p. 73-80, 2013.

LAKATTA, E.G.; LEVY, D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a "set up" for vascular disease. **Circulation**. v. 107, n. 1, p. 139-146, 2003.

LAKATTA, E.G.; SOLLOTT, S.J. Perspectives on mammalian cardiovascular aging: humans to molecules. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology**. v. 132, n. 4, p. 699-721, 2002.

LAVERDY, O.G. 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. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**. v.123, n. 4, p. 232-239, 2015.

LIBBY P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature**. v. 420, n. 6917, p. 868-874, 2002.

LIMA, E.S.; MARANHAO, R.C. Rapid, simple laser-light-scattering method for HDL particle sizing in whole plasma. **Clinical Chemistry**, v. 50, p. 1086-1088, 2004.

LIU, J. et al. Age-associated abnormalities of intrinsic automaticity of sinoatrial nodal cells are linked to deficient cAMP-PKA-Ca(2+) signaling. American Journal of Physiology. **Heart and Circulatory Physiology**. v. 306, n. 10, p. H1385-1397, 2014.

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

LUI, S.K.; NGUYEN, M.H. Elderly Stroke Rehabilitation: Overcoming the Complications and Its Associated Challenges**. Curr Gerontol Geriatr Res**. v. 2018, ID. 9853837, 2018.

MARANHÃO, R.C. et al. Lipid transfers to HDL are predictors of precocious clinical

coronary heart disease. **Clinica Chimica Acta**. v. 413, p. 502-505, 2012.

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

MARANHÃO, R.C.; FREITAS, F.R. HDL metabolism and atheroprotection: predictive value of lipid transfers. **Advances in Clinical Chemistry**. v. 65, p. 1-41, 2014.

MARATHE, G.K.; ZIMMERMAN, G.A.; MCINTYRE, T.M. Platelet-activating factor acetylhydrolase, and not paraoxonase-1, is the oxidized phospholipids hydrolase of high density lipoprotein particles. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 278, p. 3937-3947, 2003.

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

McGILLICUDDY, F.C. et al. Inflammation impairs reverse cholesterol transport in vivo. **Circulation**. v. 119, p. 1135-1145, 2009.

MEHDI, M.M.; RIZVI, S.I. Human plasma paraoxonase 1 (PON1) arylesterase activity during aging: correlation with susceptibility of LDL oxidation. **Archives of Medical Research**. v. 43, n. 6, p. 438-443, 2012.

MEYERS, C.D.; KASHYAP, M.L. Pharmacologic elevation of high-density lipoproteins: recent insights on mechanism of action and atherosclerosis protection. **Current Opinion in Cardiology**. v. 104, p. 119-123, 2004.

MICHAUD, M. et al. Proinflammatory cytokines, aging, and age-related diseases. **Journal of the American Medical Directors Association**. v. 14, n. 12, p. 877-882, 2013.

MONCADA, S.; HIGGS, E.A.; VANE, J.R. Human arterial and venous tissues generate prostacyclin (prostaglandina x), a potente inhibitor of platelet aggregation. **Lancet**. v.1, n.8001, p. 18-20, 1977.

MORAN, A. et al. The future impact of population growth and aging on coronary heart disease in China: projections from the Coronary Heart Disease Policy Model-China. **BMC Public Health**. v. 8, p. 394-407, 2008.

MOZAFFARIAN, D. et al. Heart disease and stroke statistics—2016 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**. v. 133, n. 4, p. e38-e360, 2016.

NAVAB, M. et al. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: steps 2 and 3. **Journal of Lipid Research**. v. 41, p. 1495-1508, 2000.

NEGRE-SALVAYRE, A. et al. Antioxidant and cytoprotective properties of high-density lipoproteins in vascular cells. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 41, p. 1031-1040, 2006.

NESTO, R.W. Beyond low-density lipoprotein: addressing the atherogenic lipid triad in type 2 diabetes mellitus and the metabolic syndrome. **American Journal of Cardiovascular Drugs**. v. 5, n. 6, p. 379-387, 2005.

NETER, J. et al. **Applied Linear Statistical Models**. 4. ed. Ilinois: Richard D. Irwing, 1996. p.1408.

NEWSCHAFFER, C.J.; BUSH, T.L.; HALE, W.E. Aging and total cholesterol levels: cohort, period, and survivorship effects. **American Journal of Epidemiology**. v. 136, n. 1, p. 23-34, 1992.

NIKKILÄ, M. et al. Elevated high-density-lipoprotein cholesterol and normal triglycerides as markers of longevity. **Klinische Wochenschrift**. v. 69, n. 17, p. 780-785, 1991.

NOBECOURT, E. et al. Defective antioxidative activity of small dense HDL3 particles in type 2 diabetes: Relationship to elevated oxidative stress and hyperglycaemia. **Diabetologia**. v. 48, n. 3, p. 529-538, 2005.

NOFER, J.R. et al. High density lipoprotein-associated lysosphingolipids reduce E-selectin expression in human endothelial cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 310, p. 98-103, 2003.

NOFER, J.R. et al. Suppression of endothelial cell apoptosis by high density lipoproteins (HDL) and HDL-associated lysosphingolipids. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 276, p. 34480-34485, 2001.

NOVAK, F. et al. Decreased paraoxonase activity in critically ill patients with sepsis. **Clinical and Experimental Medicine**. v. 10, p. 21-25, 2010.

OCKENE, I.S.; MILLER, N.H. Cigarette smoking, cardiovacular disease, and stroke: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. American Heart Association Task Force on Risk Reduction. **Circulation**. v. 96, n. 9, p. 3243-3247, 1997.

OLIVEIRA, C.P. et al. Removal from the plasma of the free and esterified forms of cholesterol and transfer of lipids to HDL in type 2 diabetes mellitus patients. **Lipids in Health and Disease**. v. 11, p. 65-72, 2012.

ORLANDI, A. et al. Aging, smooth muscle cells and vascular pathobiology: implications for atherosclerosis. **Atherosclerosis**. v. 188, p. 221-230, 2006.

OTTESTAD, I.O. et al. Triglyceride-rich HDL3 from patients with familial hypercholesterolemia are less able to inhibit cytokine release or to promote cholesterol efflux. **The Journal of Nutrition**. v. 136, p. 877-881, 2006.

PARK, K.H.; et al. Senescence-related truncation and multimerization of apolipoprotein A-I in high-density lipoprotein with an elevated level of advanced glycated end products and cholesteryl ester transfer activity. **The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences**. v. 65, n. 6, p. 600-610, 2010.

PERSEGOL, L. et al. Inability of HDL from type 2 diabetic patients to counteract the inhibitory effect of oxidised LDL on endothelium-dependent vasorelaxation. **Diabetologia**. v. 49, p. 1380-1386, 2006.

PETERSON, E.; BENSIMHON, B.R. Coronary heart disease. In: Hazzard, W.R. et al. **Principles of geriatric medicine & gerontology**. Ed. McGraw-Hill-Companies USA, 2003. p. 434-444.

PINTO, L.B. et al. Plasma kinetics of a cholesterol-rich emulsion in young, middle-aged, and elderly subjects. **Lipids**. v. 36, n. 12, p. 1307-1311, 2001.

POZZI, F.S. et al. Plasma kinetics of an LDL-like non-protein nanoemulsion and transfer of lipids to high-density lipoprotein (HDL) in patients with rheumatoid arthritis. **Journal of Clinical Lipidology**. v. 9, n. 1, p. 72-80, 2015.

RANA, J. S. et al. Differences in prevalence, extent, severity, and prognosis of coronary artery disease among patients with and without diabetes undergoing coronary computed tomography angiography: results from 10,110 individuals from the CONFIRM (Coronary CT Angiography Evaluation for Clinical Outcomes): an International Multicenter Registry. **Diabetes Care**. v. 35, n. 8, p. 1787-1794, 2012.

RIANCHO, J.A. et al. Age-related differences in cytokine secretion. **Gerontology**. v. 40, n. 1, p. 8-12, 1994.

RIDDELL, D.R. et al. Identication and characterization of LRP8 (apoER2) in human blood platelets. **Journal of Lipid Research**. v. 40, n. 10, p. 1925-1930, 1999.

RIVARD, A. et al. Age-dependent impairment of angiogenesis. **Circulation**. v. 99, n. 1, p. 111-120, 1999.

RIWANTO, M. et al. Altered activation of endothelial anti- and proapoptotic pathways by high-density lipoprotein from patients with coronary artery disease: role of high-density lipoprotein-proteome remodeling. **Circulation**. v. 127, p. 891-904, 2013.

ROSS, R. The pathogenesis of atherosclerosis: an update. **The New England Journal of Medicine**. v. 314, p. 488-500, 1986.

ROTHBLAT, G. H.; PHILLIPS, M. C. High-density lipoprotein heterogeneity and function in reverse cholesterol transport. **Current Opinion in Lipidology**. v. 21, p. 229 -238, 2010.

RYE, K.A.; BARTER, P.J. Regulation of high-density lipoprotein metabolism. **Circulation Research**. v. 114, n. 1, p. 143-156, 2014.

SANSONI, P. et al. The immune system in extreme longevity. **Experimental Gerontology**. v. 43, n. 2, p. 61-65, 2008.

SANTOS, R.D. et al. Plasma kinetics of a cholesterol-rich emulsion in subjects with or without coronary artery disease. **Journal of Lipid Research**. v. 44, n. 3, p. 464-469, 2003.

SERES, I. et al. Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. **Experimental Gerontology**. v. 39, n. 1, p. 59-66, 2004

SHAH, P.K. et al. Human monocyte-derived macrophages induce collagen breakdown in fibrous caps of atherosclerotic plaques. Potential role of matrix-degrading metalloproteinases and implications for plaque rupture. **Circulation**. v. 92, n. 6, p.1565-1569, 1995.

SHAW, J.A. et al. Infusion of reconstituted high-density lipo- protein leads to acute changes in human atherosclerotic plaque. **Circulation Research**. v. 103, p.1084- 1091, 2008.

SHEA, S. et al. Treatment of hypertension and its effect on cardiovascular risk factors: data from the Framingham Heart Study. **Circulation**. v. 71, n. 1, p. 22-30, 1985.

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

SPIEKER, L.E. et al. High-density lipoprotein restores endothelial function in hypercholesterolemic men. **Circulation**. v. 105, p. 1399-1402, 2002.

SPRANDEL, M.C. 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, p. 107, 2015.

STARR, M.E. et al. Age-associated increase in cytokine production during systemic inflammation-II: the role of IL-1beta in age-dependent IL-6 upregulation in adipose tissue. **The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences**. v. 70, n. 12, p. 1508-1515, 2015.

STARY, H.C. Evolution and progression of atherosclerotic lesions in coronary arteries of children and young adults. **Arteriosclerosis**. v. 9, p. I19-I32, 1989. Supplement 1.

STRONG, J.P. et al. Prevalence and extent of atherosclerosis in adolescents and young adults: implications for prevention from the pathobiological determinants of atherosclerosis in youth study. **JAMA**. v. 281, n. 8, p. 727-735, 1999.

SUC, I et al. HDL and ApoA prevent cell death of endothelial cells induced by oxidized LDL. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**. v. 17, p. 2158-2166, 1997.

SUC, I. et al. HDL and ApoA prevent cell death of endothelial cells induced by oxidized LDL. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**. v.17, p. 2158-2166, 1997.

SUGANO, M.; TSUCHIDA, K.; MAKINO, N. High-density lipoproteins protect endothelial cells from tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 272, p. 872-876, 2000.

SUGATANI, J. et al. High-density lipoprotein inhibits the synthesis of platelet-activating factor in human vascular endothelial cells. **Journal of Lipid Mediators and Cell Signalling**. v.13, n. 1, p. 73-88, 1996.

TAKEUCHI, N. et al. Changes with aging in serum lipoproteins and apolipoprotein C subclasses. **Archives of Gerontology and Geriatrics**. v. 2, n. 1-2, p. 41-48, 1983.

TANI, S. et al. Relation between low-density Lipoprotein cholesterol/apolipoprotein B ratio and triglyceriderichlipoproteins in patients with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus: a cross-sectional study. **Cardiovasc Diabetol**. v.16, n.1, p.123, 2017.

TANIMOTO, N. et al. Serum paraoxonase activity decreases in rheumatoid arthritis. **Life Sciences**. v. 72, p. 2877-2885, 2003.

TERASAKA, N. et al. High-density lipoprotein protects macrophages from oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis by promoting efflux of 7-ketocholesterol via ABCG1. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 104, p. 15093-15098, 2007.

TERRY, D.F.; EVANS, J.C.; PENCINA, M.J. Characteristics of Framingham offspring participants with long-lived parents. **Archives of Interne Medicine**. v. 12, p. 438-441, 2007.

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.

van der MEER, I.M. et al. Risk factors for progression of atherosclerosis measured at multiple sites in the arterial tree: the Rotterdam Study. **Stroke**. v. 34, n. 10, p. 2374-2379, 2003.

VERGÈS, B. Lipid modification in type 2 diabetes: the role of LDL and HDL. **Fundamental & Clinical Pharmacology**. v. 23, n. 6, p. 681-685, 2009.

VINAGRE, J.C. et al. Plasma kinetics of chylomicron-like emulsion and lipid transfers to high-density lipoprotein (HDL) in lacto-ovo vegetarian and in omnivorous subjects. Eur J Nutr. v. 53, n. 3, p. 981-987, 2014.

VIRCHOW, R. Phlogose ung Thrombose. In: **Gefassystem, Gesammelte Abhandlungen zur Wissenschaftlichen Medicin**. Frankfurt-am-Main, Meidinger Sohn and Company, p. 458-463, 1856.

WATSON, A.D. et al. Protective effect of high den- sity lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. **The Journal of Clinical Investigation**. v. 96, n. 6, p. 2882-2891, 1995.

WEINSAFT, J.W.; EDELBERG, J.M. Aging-associated changes in vascular activity: a potential link to geriatric cardiovascular disease. **The American Journal of Geriatric Cardiology**. v. 10, n. 6, p. 348-354, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global health and aged. Geneva: WHO; 2011. Disponível em: <http://www.who.int/ageing/publications/global_health.pdf>. Acesso em 28 jul 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. The global burden of disease: 2004 update. Geneva: WHO; 2004. Disponível em <http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GBD_report_2004 update_full.pdf>. Acesso em 28 jul 2018.

YUHANNA, I.S. et al. High-density lipoprotein binding to scavenger receptor-BI activates endothelial nitric oxide synthase. **Nature Medicine**. v. 7, p. 853-857, 2001.

ZIEMAN, S.; KASS, D. Advanced glycation end product cross-linking: pathophysiologic role and therapeutic target in cardiovascular disease. **Congestive Heart Failure**. v.10, n. 3, p. 144-149, 2004.

Hospital das Clínicas da FMUSP

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq

PROJETO DE PESQUISA

Título: METABOLISMO E FUNÇÃO DAS LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDADE (HDL) EM INDIVÍDUOS IDOSOS: EFEITO DA PRESENÇA DE DIABETES MELLITUS TIPO 2 E DOENÇA CORONÁRIA OBSTRUTIVA
Pesquisador Responsável: Raul Cavalcante Maranhão **Versão:** 2
Pesquisador Executante: Thauany Martins Tavoni **CAAE:** 41833115.9.0000.0068
Co-autores: Dr. Humberto Pierri, Dr. Whady A. Hueb, Fátima Rodrigues de Sousa e Freitas, Aleksandra Tiemi Morikawa.
Instituição: HCFMUSP
Departamento: COMISSÃO CIENTÍFICA DO INCOR

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Registro on-line: 13032
Número do Parecer: 1.096.457
Data da Relatoria: 03/06/2015
Apresentação do Projeto: Avaliação da composição e função de lipoproteínas de densidade alta (HDL), perfil sérico inflamatório e expressão de microRNAs em indivíduos idosos saudáveis, com diabetes mellitus ou doença cardiovascular.
Objetivo da Pesquisa: Avaliar a transferência de lípides marcados radioativamente em uma nanoemulsão para lipoproteínas de densidade alta (HDL), função antioxidante da HDL, proteínas de transferência de lípides no plasma, marcadores inflamatórios séricos e expressão de microRNAs em idosos saudáveis, com diabetes mellitus ou doença cardiovascular.
Avaliação dos Riscos e Benefícios: Não há benefício direto aos participantes. Risco baixo, referente à coleta de sangue por punção venosa. Não haverá retenção de amostras em banco de armazenamento biológico.
Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: Será incluído um total de 200 indivíduos nos seguintes grupos (50 em casa): 1) idosos (70-80 anos de idades) saudáveis; 2) idosos (70-80 anos de idade) com DCV confirmada por cineangiocoronariogafia, 3) idosos (70-80 anos de idade) com diabetes mellitus tipo 2 e 4) jovens (20-30 anos de idade) saudáveis.
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: Adequados
Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: Sem pendências
Situação do Parecer: Aprovado
Necessita Apreciação da CONEP: Não
Considerações Finais a critério do CEP: Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: **a)** desenvolver o projeto conforme delineado; **b)** elaborar e apresentar relatórios parciais e final; **c)**apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; **d)** manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; **e)** encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; **f)** justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

São Paulo, 03 de Junho de 2015

COMISSÃO CIENTÍFICA RECEBIDO 12 / 06 / 2015

Prof. Dr. Alfredo José Mansur
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq

Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 225 - Prédio da Administração - 5º andar
CEP 05403-010 - São Paulo - SP.
55 11 2661-7585 - 55 11 2661-6442 ramais: 16, 17, 18 | cappesq.adm@hc.fm.usp.br