



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

Victor França

**RELAÇÃO ENTRE A LIPOPROTEÍNA (a) E A ATEROSCLEROSE CAROTÍDEA  
SUBCLÍNICA EM INDIVÍDUOS ASSINTOMÁTICOS**

**RELATIONSHIP BETWEEN LIPOPROTEIN (a) AND SUBCLINICAL CAROTID  
ATHEROSCLEROSIS IN ASYMPTOMATIC INDIVIDUALS**

CAMPINAS  
2020

VICTOR FRANÇA

**RELAÇÃO ENTRE A LIPOPROTEÍNA (a) E A ATEROSCLEROSE CAROTÍDEA  
SUBCLÍNICA EM INDIVÍDUOS ASSINTOMÁTICOS**

**RELATIONSHIP BETWEEN LIPOPROTEIN (a) AND SUBCLINICAL CAROTID  
ATHEROSCLEROSIS IN ASYMPTOMATIC INDIVIDUALS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Ciências, na área de Clínica Médica.

Dissertation presented to the Faculty of Medical Sciences of the State University of Campinas as part of the requirements for obtaining the title of Master of Science, in the area of Clinical Medicine.

ORIENTADOR: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Eliana Cotta de Faria

COORIENTADOR: Dr<sup>a</sup> Vanessa Helena de Souza Zago

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À  
VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO  
DEFENDIDA PELO ALUNO VICTOR FRANÇA,  
E ORIENTADO PELA PROF(A). DR.(A)  
ELIANA COTTA DE FARIA

CAMPINAS

2020

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas  
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

F844r França, Victor, 1993-  
Relação entre a lipoproteína (a) e a aterosclerose carotídea subclínica em indivíduos assintomáticos / Victor França. – Campinas, SP : [s.n.], 2020.

Orientador: Eliana Cotta de Faria.

Coorientador: Vanessa Helena de Souza Zago.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Lipoproteína(a). 2. Doenças das artérias carótidas. 3. Espessura íntima-média carotídea. 4. Estenose das carótidas. 5. Doenças cardiovasculares. I. Faria, Eliana Cotta de, 1950-. II. Zago, Vanessa Helena de Souza, 1984-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Relationship between lipoprotein (a) and subclinical carotid atherosclerosis in asymptomatic individuals

**Palavras-chave em inglês:**

Lipoprotein(a)

Carotid artery diseases

Carotid intima-media thickness

Carotid stenosis

Cardiovascular diseases

**Área de concentração:** Clínica Médica

**Titulação:** Mestre em Ciências

**Banca examinadora:**

Vanessa Helena de Souza Zago [Coorientador]

Helena Fonseca Raposo

Rodrigo Tallada Iborra

**Data de defesa:** 19-11-2020

**Programa de Pós-Graduação:** Clínica Médica

**Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)**

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-7616-0196>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/8288053326104114>

# **COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO**

**VICTOR FRANÇA**

**ORIENTADOR (A): ELIANA COTTA DE FARIA**

**COORIENTADOR (A): VANESSA HELENA DE SOUZA ZAGO**

## **MEMBROS:**

- 1. PROF(A). DR(A). VANESSA HELENA DE SOUZA ZAGO**
- 2. PROF(A). DR(A). HELENA FONSECA RAPOSO**
- 3. PROF(A). DR(A). RODRIGO TALLADA IBORRA**

Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da FCM.

**Data de Defesa: 19/11/2020**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter-me concedido vida e todas as condições necessárias nessa jornada.

À orientadora professora Dr<sup>a</sup> Eliana Cotta de Faria, pela oportunidade, ensinamentos de vida e confiança recebida.

À minha coorientadora Dr<sup>a</sup> Vanessa Helena de Souza Zago, pelo amparo e avultada cooperação no meu desenvolvimento acadêmico.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 pelo apoio e financiamento que possibilitou a realização dessa dissertação.

À equipe da Seção de Bioquímica Clínica da Divisão de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas da UNICAMP, pelo suporte científico, especialmente à Gisele pela dedicação e conhecimento compartilhado.

À equipe do Laboratório de Lípidos do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da UNICAMP: agradeço à Maria do Carmo pelo auxílio no laboratório e aos alunos e amigos: Ariane, Edite, Gabriele, Jaqueline, Liriam, Raissa e Welington que através do companheirismo, proporcionaram-me momentos de aprendizado, desenvolvimento e descontração.

À Érica, por todo o apoio recebido desde o início, assistência, compreensão e amizade adquirida.

Ao Departamento de Patologia Clínica, onde também me acolheram com grande altruísmo. Principalmente à Bruna e Paulo, por toda assistência e gentileza recebidas.

À Edite, quem com grande paciência vem acompanhando minha trajetória desde 2013. Foi um prazer compartilhar todos esses momentos com você, essa amizade tornou os meus dias muito melhores.

À minha família, que permaneceu ao meu lado em todos os momentos, proporcionando-me todo o apoio, compreensão e incentivo do qual nunca poderei retribuir-lhes à altura. Em especial aos meus pais, Armando e Luisa, à minha irmã Daniela e meus irmãos Bruno e Hugo, por todo amor, conselhos e valores em que me doutrinaram.

*“Ora, a fé é o firme fundamento das coisas que se esperam, e a prova das coisas que se não veem. ”*

*(Hebreus 11)*

## RESUMO

**Introdução:** Evidências indicam que o aumento das concentrações séricas da Lipoproteína (a) (Lp[a]) é um fator de risco independente para a doença cardiovascular aterosclerótica, mas a literatura mostra relações inconsistentes quanto à participação desta lipoproteína na gênese de placas ateroscleróticas carotídeas. **Objetivos:** Avaliar a relação da Lp(a) com a aterosclerose subclínica e a presença de placas carotídeas em indivíduos assintomáticos. **Materiais e Métodos:** A seleção dos participantes foi realizada através do convênio estabelecido entre o Laboratório de Lípidos - UNICAMP e a Secretaria Municipal de Saúde de Campinas no qual resultados do perfil lipídico dos usuários que buscaram atendimento nas Unidades Básicas de Saúde do Sistema Único de Saúde eram fornecidos mensalmente. Foram triados indivíduos não dislipidêmicos que apresentaram o colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-C)  $\leq 130$ mg/dL e triglicérides  $\leq 150$ mg/dL. Em seguida foram realizados contatos e aplicados questionários telefônicos para obter informações sobre os demais critérios de inclusão no estudo: não tabagistas, ausência de doenças, indivíduos sem uso de medicamentos, índice de massa corpórea (IMC)  $\leq 29$ kg/m<sup>2</sup> e ingestão alcoólica menor que 14 gramas ao dia. Esta seleção possibilitou convidar 1536 voluntários para a avaliação clínica e laboratorial no Hospital de Clínicas - UNICAMP, com a adesão de 919. Realizaram-se exames clínicos, antropométricos e laboratoriais por métodos enzimáticos e/ou colorimétricos, imunoturbidimetria e nefelometria. A partir desta visita 317 voluntários foram selecionados e encaminhados à ultrassonografia de modo B de alta resolução para determinação da espessura mediointimal das artérias carótidas (EMIc) e da presença de placas ateroscleróticas. Testes estatísticos comparativos e de correlação foram utilizados. Análises de regressão linear uni variada e multivariada foram realizadas para se avaliar a influência das concentrações de Lp(a) sobre os demais parâmetros avaliados. Para estimar a associação entre a presença de placas, a EMIc  $\geq 0,90$  mm e as variáveis do estudo, foram utilizadas as análises de regressão logística uni e multivariada. Os resultados foram considerados significativos para valores de  $p \leq 0,05$ . **Resultados:** Os parâmetros antropométricos e bioquímicos se mostraram dentro dos limites de referência pré-estabelecidos. O grupo de indivíduos de ambos os sexos (163 mulheres/154 homens) apresentou uma mediana de idade de 43 anos e 82% eram brancos. Em 23% dos indivíduos o EMIc foi ( $\geq 0,9$  mm) e em 18% houve presença de placas. As concentrações de Lp(a) acima de 30mg/dL ocorreram em 27% dos indivíduos e nestes os valores de PON1 ( $\mu$ mol/min), GGT (U/L) e Apo B100 (mg/dL) foram mais altos, assim como a idade e as frequências de não brancos e de placas. Na regressão linear multivariada a Lp(a) foi modulada

por idade e não-brancos diretamente e por LAP (cm,mmol/L) inversamente. Nas análises de regressão logística, indivíduos não brancos apresentaram 2,5 vezes mais chances de ocorrência de placa. A mesma análise mostrou que a cada ano de vida, a chance de ocorrência de placas pode aumentar em 11%. Para concentrações de Lp(a) houve aumento da razão de chance de 2% para placas na análise univariada. **Conclusões:** Em indivíduos assintomáticos e sem fatores de risco cardiovascular, idade e a raça não branca foram fatores determinantes para a presença de placas ateroscleróticas carotídeas e sugere-se que concentrações de Lp(a) se associem à estas, mas não à EMIC. Trabalhos subsequentes poderão explorar melhor as associações pró-aterogênicas da Lp(a) observadas neste estudo.

**Palavras-chave:** Lipoproteína (a); aterosclerose carotídea; espessura íntima-média carotídea; estenose carotídea; doenças cardiovasculares.

## ABSTRACT

**Background:** Evidence indicates that increased serum concentrations of Lipoprotein (a) (Lp [a]) is an independent risk factor for atherosclerotic cardiovascular disease, but the literature shows inconsistent relationships regarding the participation of this lipoprotein in the genesis of carotid atherosclerotic plaques. **Objectives:** To evaluate the relationship of Lp(a) with subclinical atherosclerosis and the presence of carotid plaques in asymptomatic individuals. **Materials and methods:** The selection of participants was carried out through an agreement established between the Lipid Laboratory - UNICAMP and the Municipal Health Department of Campinas in which results of the lipid profile of users who sought care in the Basic Health Units of the Unified Health System were provided monthly. Non-dyslipidemic individuals who had low-density lipoprotein (LDL-C) cholesterol  $\leq 130$ mg/dL and triglycerides  $\leq 150$ mg/dL were screened. Then contacts were made, and telephone questionnaires were applied to obtain information on the other inclusion criteria in the study: non-smokers, absence of diseases, individuals without medication, body mass index (BMI)  $\leq 29$ kg/m<sup>2</sup> and alcohol intake less than 14 grams a day. This selection made it possible to invite 1536 volunteers for clinical and laboratory evaluation at Hospital de Clínicas - UNICAMP, with the adhesion of 919. Clinical, anthropometric and laboratory tests were carried out by enzymatic and / or colorimetric methods, immunoturbidimetry and nephelometry. From this visit, 317 volunteers were selected and referred to high-resolution B-mode ultrasound to determine the mediointimal thickness of the carotid arteries (cIMT) and the presence of atherosclerotic plaques. Comparative and correlation statistical tests were used. Univariate and multivariate linear regression analyzes were performed to assess the influence of Lp(a) concentrations on the other parameters evaluated. To estimate the association between the presence of plaques, the cIMT  $\geq 0.90$  mm and the study variables, univariate and multivariate logistic regression analyzes were used. The results were considered significant for values of  $p \leq 0.05$ . **Results:** The anthropometric and biochemical parameters were within the pre-established reference limits. The group of individuals of both sexes (163 women / 154 men) had a median age of 43 years and 82% were white. In 23% of the individuals, the cIMT was ( $\geq 0.9$  mm) and in 18% there was plaque. Lp(a) concentrations above 30mg/dL occurred in 27% of the individuals and in these values of PON1 ( $\mu$ mol/min), GGT (U/L) and Apo B100 (mg/dL) were higher, as well as the age and frequency of non-whites and plaques. In multivariate linear regression, Lp(a) was modulated by age and non-whites directly and by LAP (cm,mmol/L) inversely. In logistic regression analyzes, non-white individuals were 2.5 times more likely to have plaque. The same analysis showed that for

each year of life, the chance of plaque occurrence can increase by 11%. For Lp(a) concentrations there was an increase of the 2% chance ratio for plaques in the univariate analysis. **Conclusions:** In asymptomatic individuals without cardiovascular risk factors age and non-white race were determining factors for the presence of carotid atherosclerotic plaques and it is suggested that Lp(a) concentrations are associated with them, but not with cIMT. Subsequent work will be able to better explore the pro-atherogenic associations of Lp(a) observed in this study.

**Keywords:** Lipoprotein (a); carotid atherosclerosis; carotid intima-media thickness; carotid stenosis; cardiovascular diseases.

# SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>1.0 INTRODUÇÃO</b>  | 12 |
| 1.1 Epidemiologia das doenças cardiovasculares e fatores de risco associados | 12 |
| 1.2 Metabolismo de lipoproteínas plasmáticas                                 | 16 |
| 1.3 Lipoproteína (a)   | 19 |
| 1.4 Lipoproteína (a) e aterosclerose   | 23 |
| 1.5 Lipoproteína (a) e estenose carotídea                                    | 24 |
| <b>2.0 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA SOCIAL</b>                                 | 28 |
| <b>3.0 OBJETIVOS</b>   | 29 |
| <b>4.0 MATERIAL E MÉTODOS</b>  | 30 |
| 4.1 População do estudo  | 30 |
| 4.2 Avaliação clínica e antropométrica                                       | 31 |
| 4.3 Determinações laboratoriais  | 32 |
| 4.4 Avaliação da espessura mediointimal das artérias carótidas               | 33 |
| 4.5 Análises Estatísticas  | 34 |
| <b>5.0 RESULTADOS</b>  | 35 |
| <b>6.0 CONCLUSÃO</b>   | 56 |
| <b>7.0 REFERÊNCIAS</b>   | 58 |
| <b>8.0 ANEXOS</b>  | 71 |
| 8.1 Parecer do comitê de ética projeto temático FAPESP                       | 71 |
| 8.2 Autorização da Prefeitura de Campinas                                    | 74 |
| 8.3 Parecer consubstanciado pelo comitê de ética e pesquisa da UNICAMP       | 75 |

## 1.0 INTRODUÇÃO

### 1.1 Epidemiologia das doenças cardiovasculares e fatores de risco associados

As doenças cardiovasculares (DCV) são as principais causas de óbito no Brasil e no mundo, fazendo parte das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), mais especificamente no grupo de doenças do aparelho circulatório. Segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia estima-se que ocorreram 383.961 mortes no Brasil em 2017 em decorrência de DCV, correspondendo a mais de 30% dos óbitos registrados no país (1–5).

O impacto socioeconômico das DCNT está diretamente ligado com a saúde pública. Dados recentes demonstram que a população brasileira está em uma mudança importante de faixa etária, com o aumento de idosos e da expectativa de vida (6). Com isso é estimada uma incidência maior dos casos de DCV com seus consequentes custos elevados ao país (7,8).

Este grupo de doenças compreende cardiopatia isquêmica, acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca, doença arterial periférica entre outras, e possuem uma relação direta com fatores de risco muito bem estudados nas últimas décadas como a hipertensão arterial, diabetes, dislipidemias, tabagismo, estresse, dieta inadequada e sedentarismo (5,9,10).

As manifestações das doenças cardiovasculares muitas vezes têm como processo subjacente a aterosclerose, uma doença inflamatória crônica, progressiva e silenciosa. Estudos realizados em múmias com mais de quatro mil anos demonstraram através de análises tomográficas a presença de placas ateroscleróticas em artérias, relatando que esta doença acompanha a história natural da humanidade por um período bastante significativo (11).

A aterosclerose atinge usualmente a parede de artérias de médio e grande calibre, onde ocorre um acúmulo de lipoproteínas no espaço subendotelial. Alguns estudos apontam que o desenvolvimento da aterosclerose pode ter início ainda na infância, onde já podem ser observadas estrias gordurosas precursoras de placas ateroscleróticas. Entretanto, as manifestações clínicas tendem a ocorrer posteriormente, visto que é um processo cumulativo e uma doença crônico-degenerativa (12,13).

A gênese da aterosclerose envolve uma quantidade variável de fatores de risco, como, por exemplo, a hipertensão arterial, diabetes e o tabagismo que culminam na agressão do endotélio vascular, favorecendo a retenção de lipoproteínas, especialmente a lipoproteína de baixa densidade (LDL - do inglês, *low-density lipoprotein*), rica em ésteres de colesterol (14).

A retenção de LDL na camada íntima arterial expõe essa lipoproteína a um ambiente com radicais livres, propiciando modificações químicas tanto da sua fração lipídica quanto

proteica, sendo a oxidação um papel fundamental nesse processo. A partícula de LDL oxidada (LDLox) é reconhecida pelos macrófagos residentes, capazes de captá-las através de seus receptores do tipo *scavenger*. Após a fagocitose, o macrófago sobrecarregado com lípidos passa a produzir uma série de quimiocinas, citocinas e proteases, capazes de estimular o processo inflamatório local. Assim, tem início a migração de monócitos para a camada íntima onde se diferenciam em macrófagos, que irão capturar mais partículas de LDLox. Estes macrófagos (conhecidos como células espumosas) apresentam grande atividade pró-inflamatória e amplificam o processo de migração e diferenciação celular no espaço subendotelial (15,16).

A progressão desse processo estimula a liberação de fatores de crescimento e consequente proliferação das células musculares lisas da camada média para a íntima e a síntese de macromoléculas da matriz extracelular, como a elastina, colágeno e proteoglicanos, levando o processo fisiopatológico a uma fase mais complexa caracterizada pela formação da capa fibrosa da placa aterosclerótica (17,18).

A placa aterosclerótica estabelecida pode ser constituída por elementos celulares, núcleo lipídico e conteúdo necrótico, devido ao processo de apoptose dos macrófagos e células musculares lisas. As placas são categorizadas de duas formas, uma forma estável onde são fibrosas e compostas por tecido sólido e com pouco conteúdo lipídico ou podem ser instáveis, com alta atividade inflamatória, capa fibrosa fina e grande conteúdo lipídico, o que as tornam mais propensas à ruptura (15,19).

A ruptura da placa é a condição mais grave do processo aterosclerótico, pois permite a liberação do conteúdo altamente trombótico para a circulação dando início a aterotrombose, que culmina na restrição de oxigênio e nutrientes para os tecidos, levando a isquemia e/ou gerando fragmentos (trombos) que podem favorecer a embolia e consequente isquemia em outras regiões (20).

De forma geral, são reconhecidos os fatores de risco que contribuem para o desenvolvimento da aterosclerose. Estes são divididos entre não modificáveis, modificáveis e os não tradicionais (21).

Fatores de risco não modificáveis são bem descritos na literatura, como por exemplo, a idade. Estima-se que a cada dez anos há uma chance de aumento de 2,5 vezes na mortalidade pela DCV; ainda está estabelecido que o aumento da idade proporcione um aumento de desenvolvimento da doença aterosclerótica coronariana (DAC) (21).

O sexo também tem sua contribuição: a DAC tende a manifestar-se mais tardiamente no sexo feminino do que no sexo masculino. O sexo feminino conta com o efeito protetor do estrogênio, hormônio que está relacionado também a proteção do endotélio contra o

desenvolvimento de placas ateroscleróticas. Mas com o avanço da idade, as mulheres passam por mudanças fisiológicas, como o climatério e menopausa, com ocorrência da diminuição das concentrações de estrogênio, e conseqüentemente ficam mais expostas ao desenvolvimento da aterosclerose (22,23).

Entre os fatores modificáveis destacam-se a presença de obesidade/sobrepeso, hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM), dislipidemias, sedentarismo e hábitos alimentares não saudáveis. A HAS é caracterizada pela pressão arterial permanentemente elevada, com níveis pressóricos  $\geq 140$  e/ou 90 mmHg. É apontada como um dos principais fatores de risco para a DAC, e quando associada ao diabetes são responsáveis por 25% dos óbitos por doenças coronarianas, contribuindo para o desenvolvimento da aterosclerose graças aos efeitos deletérios sobre o endotélio vascular (24,25).

Alguns distúrbios metabólicos como a resistência insulínica, pré-diabetes e diabetes mellitus estão envolvidos no desenvolvimento e progressão da doença aterosclerótica de forma significativa. Por exemplo, a resistência insulínica (que corresponde a um comprometimento na sinalização efetuada por este hormônio), a hiperinsulinemia e a hiperglicemia resultantes contribuem para o aumento no aporte de ácidos graxos livres, formação de produtos da glicação avançada, ativação de proteína quinase C, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial (26). Juntos, estes fatores favorecem o processo de disfunção endotelial e inflamação sistêmica, permitindo a ativação do processo de aterosclerose com proliferação de células musculares lisas, células endoteliais e monócitos (26,27). Como resultado, as doenças cardiovasculares são as principais causas de morte em diabéticos (28). A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que em 2012, houve 1,5 milhões de mortes atribuída ao diabetes em todo o mundo (29). No Brasil, havia 14,3 milhões de indivíduos diabéticos em 2015 (30). A DAC corresponde a aproximadamente 2/3 dessas mortes, especialmente entre os mais jovens e com maior índice glicêmico (31).

A síndrome metabólica é um problema de saúde pública, afetando cerca de 20% de indivíduos adultos (32). É uma condição clínica caracterizada pela presença de pelo menos três de cinco fatores de risco cardiovascular, a saber: obesidade central, observada pela circunferência de cintura (superior a 94 cm para homens e 80 cm para mulheres segundo a OMS) (33); triglicerídeos ( $>150$ mg/dL); HDL-C (colesterol da lipoproteína de alta densidade, do inglês, *high-density lipoprotein cholesterol*) baixo (inferior a 40mg/dL para homens e 50mg/dL para mulheres); HAS e glicemia em jejum elevada (igual ou superior a 110mg/dL) (34). Em um estudo, conduzido por Timóteo e colaboradores, revelou-se que a síndrome

metabólica está associada ao dobro de desfechos cardiovasculares e 1,5 vezes de aumento da mortalidade total com relação aos não portadores desta doença (35).

Vários estudos têm avaliado os mecanismos envolvidos na elevação do risco cardiovascular na presença de síndrome metabólica. Entre os mais proeminentes, destacam-se as evidências da existência de alterações funcionais do tecido endotelial, pois a síndrome metabólica promove um estado contrátil elevado do endotélio. Somado a isso a disfunção endotelial também gera um estresse oxidativo e um ambiente pró-inflamatório, o que impacta no metabolismo corpóreo, sendo um fator chave para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (15,32,34,36).

A obesidade consiste em um distúrbio nutricional e metabólico, sendo considerada uma epidemia global que está relacionada às transições das últimas décadas nos hábitos nutricionais, sedentarismo e condições socioeconômicas que favoreceram um aumento de sua prevalência (37,38).

A obesidade é definida geralmente pelo índice de massa corpórea (IMC); de acordo com este índice, é possível identificar indivíduos com peso normal (IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m<sup>2</sup>), sobrepeso (IMC entre 25 e 29,9 kg/m<sup>2</sup>) e obesidade de grau I (IMC entre 30 e 34,9 kg/m<sup>2</sup>), grau II (IMC entre 35 e 39,9 kg/m<sup>2</sup>) e grau III (IMC maior que 40 kg/m<sup>2</sup>) (39). Outros critérios também podem ser utilizados para a classificação, como a circunferência da cintura, massa de gordura central e periférica, mas o IMC continua sendo o mais aceito e utilizado internacionalmente (36).

As associações entre a presença da obesidade e manifestações cardiovasculares são numerosas, sendo esta condição um fator independente de risco às DCVs bem como para o desenvolvimento de HAS que está ligada à DAC, síndrome metabólica, diabetes mellitus, infarto do miocárdio e fibrilação atrial (35). Isso ocorre porque os adipócitos também podem produzir citocinas pró-inflamatórias, e a medida que a obesidade avança, os adipócitos hipertrofiados, podem apresentar o processo de apoptose, que induz a necrose e fibrose celular, intensificando ainda mais o processo inflamatório local contribuindo para as manifestações de DCV (38,40).

Os fatores não tradicionais principais para o risco cardiovascular são as concentrações de citocinas pró-inflamatórias, proteína C reativa (PCR) e a interleucina-6 (IL-6). A IL-6 é uma citocina produzida principalmente pelo fígado sob a estimulação de citocinas pró-inflamatórias derivadas de adipócitos (15). Suas concentrações elevadas estão relacionadas a um prognóstico adverso, refletindo um estado inflamatório primário que provoca a instabilidade da placa

aterosclerótica (15). Pacientes com angina instável e com níveis IL-6 sérica elevados demonstraram associação com maior mortalidade hospitalar (15,41).

A PCR é uma proteína de fase aguda, utilizada na prática clínica como um biomarcador de inflamação sistêmica (15). É sintetizada pelos hepatócitos em resposta à citocinas inflamatórias. O desenvolvimento de métodos de alta sensibilidade (PCR ultrasensível) possibilitou sua aplicação clínica no contexto da aterosclerose, marcada por inflamação vascular sistêmica; assim, as concentrações de PCR estão diretamente ligados aos fatores de risco cardiovascular e estão inversamente associados às concentrações de HDL-C (42).

As dislipidemias são importantes no contexto cardiovascular e podem ter duas formas de classificação segundo a sua etiologia. As causas primárias remetem distúrbios lipídicos de natureza genética, ao passo que as causas secundárias podem ser derivadas de hábitos de vida inadequados como dieta inadequada, sedentarismo, comorbidades e/ou fármacos (15).

Laboratorialmente as dislipidemias podem ser classificadas como hipercolesterolemia isolada, que é o aumento isolado do LDL-C ( $\geq 160\text{mg/dL}$ ); hipertrigliceridemia isolada, onde ocorre o aumento dos triglicerídeos ( $\text{TG} \geq 150\text{mg/dL}$  em jejum calórico de 12 horas ou  $\geq 175\text{ mg/dL}$ , se a amostra foi obtida sem jejum); hiperlipidemia mista, que por sua vez é aumento do LDL-C ( $\geq 160\text{mg/dL}$ ) e de triglicerídeos ( $\text{TG} \geq 150\text{mg/dL}$  em jejum ou  $\geq 175\text{ mg/dL}$ , se a amostra foi obtida sem jejum calórico) e HDL-C baixo, caracterizada por baixas concentrações de HDL-C (homens  $<40\text{mg/dL}$  e mulheres  $<50\text{mg/dL}$ ) isolado ou associado ao aumento da lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) ou triglicérides (15).

Dada a importância das DCV no âmbito global, e principalmente pelo notável e imprescindível papel das lipoproteínas no desenvolvimento dessas doenças, julga-se pertinente a abordagem do metabolismo dessas lipoproteínas plasmáticas, apresentado a seguir.

## 1.2 Metabolismo de lipoproteínas plasmáticas

As lipoproteínas são definidas como agregados macromoleculares compostos por lípidos e apolipoproteínas cuja função primordial é realizar o transporte dos lípidos (hidrofóbicos) no plasma. No geral, são classificadas em cinco tipos de acordo com a composição, densidade, tamanho e carga elétrica: quilomícrons, lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL – do inglês, *very low-density lipoprotein*), lipoproteína de densidade intermediária (IDL – do inglês, *intermediary density lipoprotein*), lipoproteína de baixa densidade (LDL – do inglês, *low-density lipoprotein*) e lipoproteína de alta densidade (HDL – do inglês, *high-density lipoprotein*). Os quilomícrons e a VLDL são lipoproteínas ricas em

triglicerídeos enquanto a HDL e LDL são constituídas principalmente por colesterol (colesterol éster) (15,43).

As apolipoproteínas são estruturas importantes dessas partículas, pois são ligadas em suas superfícies e desempenham diversas funções. A apolipoproteína A-I (apo A-I) é a principal proteína constituinte da HDL, possibilitando a retirada de colesterol das superfícies celulares entre outras funções consideradas anti-aterogênicas (44). Já os quilomícrons apresentam a apo B-48 como principal apolipoproteína; ainda, a apo B-100 representa a principal fração proteica da VLDL, IDL e LDL. Apolipoproteínas menores como a apo C e apo E são essenciais para a interação das diferentes classes de lipoproteínas com enzimas hidrolíticas (como a lipoproteína lipase – LPL e lipase hepática - LH) e receptores celulares específicos (43).

O metabolismo das lipoproteínas pode ser dividido em duas vias principais, a via intestinal e hepática. Na via intestinal os lípidos advindos da dieta são emulsificados pelos sais biliares e compartimentalizados em micelas, o que possibilita a hidrólise pelas enzimas pancreáticas. As micelas transitam livremente pela borda em escova, e possibilitam a absorção de seu conteúdo lipídico pela membrana dos enterócitos (15).

Ácidos graxos livres, monoglicerídeos, colesterol livre e outros componentes lipídicos são transportados pela membrana plasmática e direcionados ao retículo endoplasmático do enterócito. Neste local, os ácidos graxos são utilizados para a síntese de triglicerídeos e o colesterol livre é esterificado por meio da atividade da enzima ACAT2 (do inglês, *acetyl-coenzyme A acetyltransferase 2*). Somado a isso, a proteína MTP (do inglês, *microsomal transfer protein*) transfere triglicérides para o interior do promove a conjugação dos lípidos reconstituídos às apolipoproteínas nascentes (neste caso a apolipoproteína B-48, obrigatoriamente). Somado a isso, a proteína MTP (do inglês, *microsomal transfer protein*) transfere triglicérides e fosfolípidos ao retículo promovendo a conjugação destes ao colesterol esterificado e à apoproteína B-48 nascente (43). Estas estruturas formadas são transportadas ao aparelho de Golgi na forma denominada quilomícrons (15,43,45).

Os quilomícrons apresentam uma composição rica em triglicérides, e são transportados para o sistema linfático, alcançando a circulação através do ducto torácico. Nos capilares extra-hepáticos são convertidos a partículas remanescentes, entretanto ainda ricas em triglicérides, por meio da atividade da lipoproteína lipase (LPL). Esta enzima se encontra na superfície das células endoteliais principalmente no tecido adiposo e muscular, sendo responsável pela hidrólise dos triglicérides da partícula e produção de ácidos graxos livres e glicerol. Desta maneira a enzima viabiliza o fornecimento de ácidos graxos livres para armazenamento no

tecido adiposo ou para a utilização no tecido muscular esquelético como fonte energética (15,46).

Os quilomícrons continuarão a ser substrato da LPL na circulação na forma denominada quilomícrons remanescentes. Estes são removidos da circulação pelo fígado por meio dos receptores celulares B e E (ou receptores de LDL - LDLR), em um processo intermediado pelo enriquecimento das partículas remanescentes em apolipoproteína E (apo E); ainda, os remanescentes também podem ser captados pelo fígado via receptores E, via proteína análoga ao receptor de LDL, a LRP, e receptores tipo  $\alpha$ 2-macroglobulina (43,45).

Nos hepatócitos, o aporte lipídico proveniente de quilomícrons (que transporta também o colesterol proveniente da dieta) somado ao conteúdo endógeno e as necessidades dos tecidos periféricos, permitem a sinalização para a reorganização de uma nova lipoproteína rica em triglicerídeos, a VLDL, dando início à via hepática (43).

A VLDL é formada através da proteína MTP, que transfere os triglicerídeos, colesterol livre e esterificado e fosfolípidos para a apo B-100 (43). Ao passo que a VLDL é liberada na circulação, o seu conteúdo rico em triglicerídeos é hidrolisado pela LPL. Desta maneira, os ácidos graxos disponibilizados poderão ser armazenados no tecido adiposo e/ou utilizados como fonte de energia pelo tecido muscular esquelético (15).

Na circulação, a VLDL está sujeita a troca lipídica de triglicerídeos e ésteres de colesterol com outras lipoproteínas, como a HDL e LDL, pela ação da proteína de transferência de colesterol esterificado (CETP – do inglês, *cholesteryl ester transfer protein*) (45). Pela ação contínua da LPL, a VLDL sofre uma redução progressiva em seu conteúdo de triglicerídeos, tornando-se assim uma lipoproteína de densidade intermediária (IDL) (47).

As partículas de IDL também são substrato para a atividade da LPL e da lipase hepática (LH), presente principalmente nos sinusoides hepáticos. Nesta etapa, as partículas de IDL podem ser removidas da circulação através dos receptores LDLR hepáticos (15,43).

A medida que o conteúdo da IDL não captada pelo fígado é hidrolisado pela LPL e LH, resta apenas um residual de triglicerídeos em seu interior, ao passo que o conteúdo em colesterol esterificado é preservado e passa a ser predominante. Estas características definem a lipoproteína denominada LDL. Essa lipoproteína representa a principal fonte de colesterol aos tecidos periféricos, e permanecem na circulação por um tempo relativamente longo, de aproximadamente três dias (48).

A maior parte das partículas de LDL são removidas da circulação periférica por meio do reconhecimento da apo B-100 pelos LDLR nos hepatócitos. Após a endocitose, o colesterol da LDL é hidrolisado pela enzima lipase lisossomal ácida, formando colesterol livre, que poderá

participar da síntese de esteroides, formação das membranas celulares, degradação ou ser transportado para exterior da célula (49,50). Ainda no interior dos hepatócitos o colesterol livre poderá ser esterificado pela ACAT (43). Eventualmente, parte do colesterol livre pode ser oxidado, formando óxidos de colesterol que regulam a transcrição de genes como receptores de LDL e receptores de HDL, ACAT, HMG-CoA redutase (hidroximetilglutaril-Coenzima A redutase), contribuindo assim para a homeostase de colesterol corpóreo (43,51).

Outra lipoproteína presente na circulação é a HDL, que é formada principalmente da síntese da apolipoproteína A-I (apo A-I) nos hepatócitos e enterócitos. Na circulação a apo A-I interage com transportadores específicos (*ATP binding cassette A1*, ou ABCA1) presentes nas membranas plasmáticas (15). Essa interação contínua é caracterizada como efluxo de colesterol e fosfolípidos. A apo A-I também tem interação com a enzima Lecitina Colesterol Aciltransferase (LCAT) responsável por esterificar o colesterol livre (15,52). A relação persistente da apo A-I com outras proteínas transmembranas como ABCG1 (do inglês, *ATP binding cassette*) e SR-BI (do inglês *scavenger receptor class B*) promove o aumento gradativo do diâmetro da HDL, removendo assim o excesso de conteúdo lipídico dos tecidos periféricos no processo conhecido como transporte reverso do colesterol (52–56).

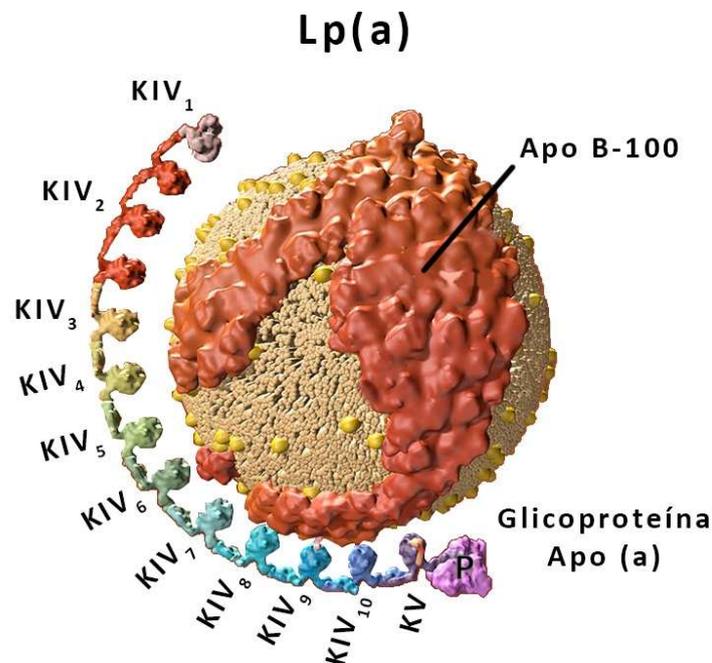
Ao passar pelo fígado, os hepatócitos removem o excesso de colesterol presente na HDL, possibilitando essa lipoproteína reiniciar esse processo (43). Além disso a HDL também interage com outras lipoproteínas plasmáticas, principalmente através da proteína de transferência de colesterol éster (CETP) que realiza a troca de colesterol esterificado da HDL por triglicerídeos da VLDL e quilomícrons, contribuindo para o remodelamento destas lipoproteínas (52).

### **1.3 Lipoproteína(a)**

Além das lipoproteínas tradicionalmente utilizadas para avaliação das dislipidemias, também há em nosso organismo a lipoproteína (a) (Lp(a)). Essa lipoproteína foi descrita pela primeira vez em 1963 pelo médico norueguês Kare Berg, quando este conduzia seus estudos acerca da LDL (57).

A Lp(a) possui grande semelhança estrutural em relação à partícula de LDL. Ambas apresentam uma estrutura esférica, contêm a apo B-100 como apolipoproteína estrutural, possuem cerca de 25nm de diâmetro, conteúdo lipídico rico em colesterol esterificado e densidade entre 1,05 e 1,12 g/mL. A principal diferença entre a Lp(a) e a LDL está na sua

morfologia, pois a Lp(a) apresenta em sua estrutura a presença da glicoproteína apo (a) através de uma ligação covalente à apo B-100 (58,59), conforme apresentado pela figura 1.



**Figura 1: Partícula da Lp(a).** Apo B-100: apolipoproteína B-100; KIV: *kringle* IV; KV: *kringle* V; P: domínio inativo de protease; Figura adaptada de amgenscience.com.

O gene responsável pela síntese de apo (a) é o gene *LPA* (MIM 152200; ENSG00000198670), que está localizado na cadeia reversa do cromossomo 6q26-27 e é responsável por controlar 90% da síntese de apo (a) (60,61). A apo (a) é estruturalmente caracterizada como uma glicoproteína que possui estruturas tridimensionais de cadeias peptídicas pesadas denominadas de *Kringles* (K) com aproximadamente 80 aminoácidos e cada K contém seis resíduos de cisteína que formam três ligações dissulfeto para fornecer a estrutura de alça tripla característica dos K (61).

Por razões ainda desconhecidas o gene da apo (a) evoluiu a partir do gene do plasminogênio (61,62). O plasminogênio é uma pró-enzima que está envolvida nos processos de hemostasia do organismo, onde pode ser convertida na enzima fibrinolítica plasmina, cuja a principal função é atuar na fibrinólise (63). O plasminogênio contém em sua estrutura cinco *kringles* (KI ao KV) (64).

A apo (a) também possui *kringles* em sua estrutura, da mesma forma que o plasminogênio, porém não apresenta do KI ao KIII. Para a apo (a) são observados 10 subtipos de KIV e uma cópia de KV, conforme mostrado na figura 1. Apesar dessa semelhança, a apo (a) não possui ação fibrinolítica, e a apo (a) pode interferir na conversão do plasminogênio em plasmina inibindo o processo fibrinolítico (18,64).

A apo (a) ligada à LDL pode apresentar tamanhos diferentes entre indivíduos, pois especificamente o subtipo dois do KIV (KIV<sub>2</sub>) pode apresentar um número variável de cópias, podendo chegar a mais de 40, com isso é possível chegar em diferentes isoformas de apo (a). As menores isoformas de apo (a) levam menos tempo de serem sintetizadas pelos hepatócitos e portanto, as concentrações de Lp(a) são inversamente proporcionais às isoformas (60,64,65).

Estudos *in vitro* demonstraram que a síntese de apo (a) ocorre nos hepatócitos e a associação desta glicoproteína com a apo B-100 ocorre na superfície celular (66,67). Outros estudos afirmam que a formação da Lp(a) pode ocorrer tanto no citoplasma como na superfície dos hepatócitos, bem como uma pequena parte na circulação (61,68).

Existem evidências que podem existir diversas vias para o catabolismo desta lipoproteína (68). Alguns estudos relatam que os receptores de LDL (LDLR) nos hepatócitos podem participar da remoção da Lp(a), embora não são considerados a via exclusiva de captação para o catabolismo dessa lipoproteína (17,60,66).

Outros receptores foram propostos na remoção da Lp(a) nos hepatócitos, como os receptores de plasminogênio (PlgRKT), receptores de VLDL (VLDLR), lectinas de ligação a carboidratos (ASGR1) e receptor *Toll-like* (TLR) (61,68). Como os rins compartilham com o fígado alguns receptores que possivelmente apresentam afinidade pela Lp(a), como PlgRKT e VLDLR, os rins também podem estar envolvidos nos mecanismos de depuração dessa lipoproteína (61,62,68).

Considerando a endocitose da Lp(a) pelos hepatócitos, ocorre uma dissociação estrutural, entre a parte esférica correspondente à LDL e a apo (a) (60). A partícula de LDL segue a via comum de degradação lisossomal enquanto a apo (a) também poderá ser degradada ou reciclada, sendo transportada para a rede trans-Golgi e empacotada em endossomos que serão liberadas no citoplasma dos hepatócitos e ou enviadas para a superfície celular e liberadas como apo (a) livre na circulação (60,61).

Existem evidências de que as concentrações plasmáticas de Lp(a) são determinadas pela produção de apo (a) e pela natureza das isoformas desta glicoproteína (61,64). De fato, as concentrações plasmáticas na população em geral variam de 0,1 a 300 mg/dL (69), e as diretrizes nacionais e internacionais não estabelecem valores de referência (15,70,71).

As concentrações de Lp(a) podem variar entre os indivíduos e em certas populações, cujas as causas subjacente ainda não foram completamente esclarecidas (61). Indivíduos com ascendência africana comumente apresentam concentrações entre duas a três vezes mais elevadas de Lp(a) (59).

Alguns autores relatam possíveis polimorfismos no gene *LPA* (64,72) com impactos para as concentrações plasmáticas de Lp(a). Schmidt e colaboradores (73) avaliaram três SNPs e relataram que eles contribuem para diferentes concentrações de Lp(a) em indivíduos afro-americanos e caucasianos. Dois SNPs (T3888P e G + 1/inKIV-8A), associam-se à supressão da síntese de apo (a), sendo mais comuns em indivíduos caucasianos, enquanto o terceiro SNP (G-21A) aumentou a síntese de apo (a), sendo este mais comum em afro-americanos.

Outros estudos evidenciaram, com as concentrações de Lp(a) expressas como mediana, que os chineses apresentam menores valores (11 mg/dL) seguidos por não hispânicos (12mg/dL), japoneses (13mg/dL), hispânicos (19mg/dL) e indivíduos negros ou com ascendência africana (39mg/dL) (61,64,74).

A influência do estilo de vida e condições ambientais nas concentrações de Lp(a) ainda permanecem de forma controversa na literatura. Alguns estudos relatam que a idade, atividade física, IMC e dieta podem afetar as concentrações de Lp(a), outros estudos não mostraram qualquer associação ou influência nas concentrações de Lp(a) (61,72,75). Concentrações mais elevadas de Lp(a) foram relatadas em doenças agudas como infarto do miocárdio e doenças inflamatórias (72).

A discussão acerca das concentrações plasmáticas de Lp(a) justifica-se pelo fato de que a Lp(a) elevada é considerada um fator de risco de doenças cardiovasculares independente em todos os grupos raciais estudados até o momento (76).

O estudo do coração de Copenhagen encontrou uma maior incidência de DAC e infarto do miocárdio nos indivíduos que apresentaram concentrações de Lp(a) acima do percentil 80 da população estudada, tendo como equivalente concentrações acima de 50 mg/dL (77). Este valor também adotado pelo painel do consenso da Sociedade Europeia de Aterosclerose (EAS) (78). Já a Diretriz de Risco Cardiovascular Canadense e outros estudos incluindo uma metanálise, definem que concentrações de Lp(a) maiores que 30mg/dL estão associados a um aumento de risco cardiovascular e estima-se que 20 a 30% da população mundial apresentam essas concentrações (64,79–81).

Contudo, os estudos até o presente momento não revelaram um consenso na função fisiológica da Lp(a) (59–61). Jawi e colaboradores (61) relatam que a Lp(a) pode inibir significativamente o crescimento de tumores, o processo de angiogênese e cicatrização de

feridas. Também foi proposto que a Lp(a) em concentrações normais e em condições com baixo estresse oxidativo e ausência ou baixo índice de inflamação, pode eliminar fosfolípidos oxidados presentes em circulação através da enzima fosfolipase A<sub>2</sub> associada à lipoproteína (Lp-PLA<sub>2</sub>) que está presente em sua estrutura (82).

Um estudo de proteômica demonstrou que a Lp(a) possui mais 33 proteínas associadas à sua superfície que podem estar envolvidas nos processos de metabolismo lipídico, resposta inflamatória e processos de coagulação (83). Portanto, permanece conceitualmente mais conhecida como uma lipoproteína antifibrinolítica devido à homologia ao plasminogênio e pró-aterogênica em razão da semelhança com a partícula da LDL (15,64,80) – tema este que será explorado a seguir

#### 1.4 Lp(a) e aterosclerose

A Lp(a) carrega todos os riscos aterogênicos da partícula de LDL, incluindo a propensão a entrada no espaço subendotelial, retenção e oxidação (15,64). As concentrações de Lp(a) tem sido consideradas como um fator risco independente para doenças cardiovasculares, porém seu papel na aterosclerose ainda não foi totalmente elucidado, e suas variadas isoformas agregam uma maior complexidade dessa lipoproteína no processo aterosclerótico (73,84–86).

Os *Kringles* podem desempenhar vários papéis patológicos, principalmente pró-aterogênicos, pois estimulam a secreção de citocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos como a interleucina 6 (IL-6) e as metaloproteases que podem amplificar a resposta inflamatória local, a disfunção endotelial e estimular a proliferação e migração de células do músculo liso em direção à lesão aterosclerótica, principalmente o KIV<sub>(6-7)</sub> (61,87). A presença de locais de ligação à lisina, principalmente no KIV<sub>(10)</sub> aumenta a capacidade da Lp(a) de se ligar e permanecer nas células endoteliais vasculares bem como na rede de fibrina e, portanto, pode ser crucial para o processo aterotrombótico promovido pela Lp(a) (17,61).

A Lp(a) tem uma maior probabilidade de sofrer oxidação do que a própria LDL, pois ela contém em sua estrutura os *Kringles* da glicoproteína apo (a) que por sua vez carregam fosfolípidos oxidados (82,88). Esses fosfolípidos oxidados apesar de apresentarem uma função protetora como a formação de prostaglandinas E<sub>2</sub> que possui um efeito de vasodilatação e heme oxigenase 1 que apresenta um efeito anti-inflamatório e antioxidante, quando há um excesso em suas concentrações plasmáticas, perde-se o efeito protetor e torna-se prejudicial (61). Muitos eventos celulares são modulados por fosfolípidos oxidados, como a ligação de leucócitos a células endoteliais, e a regulação positiva de várias citocinas e quimiocinas (82).

As altas concentrações de Lp(a) no plasma podem facilitar sua entrada no espaço subendotelial e promover o processo pró-inflamatório local, pois os fosfolipídeos oxidados contidos na Lp(a) modulam positivamente o mRNA da IL-8, a diferenciação de monócitos em macrófagos no espaço subendotelial e também podem reduzir o óxido nítrico, implicando diretamente na função de relaxamento vascular, possuindo assim um papel importante no processo de aterosclerose (61,68).

A enzima Lp-PLA<sub>2</sub> da Lp(a) é capaz de hidrolisar os fosfolipídeos oxidados resultando em ácido graxo livre oxidado e lisofosfatidilcolina que podem acumular-se no endotélio vascular e desencadear e intensificar os efeitos pró-inflamatórios, pró-apoptóticos e pró-aterogênicos (82).

A nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase (NADPH) e mieloperoxidase estão diretamente envolvidas no processo de oxidação da Lp(a), pois resultam na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (61). A Lp(a) oxidada interfere nas células endoteliais, envolvendo a ativação do receptor 2 do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF – do inglês, *vascular endothelial growth factor*) dando início a uma série de reações bioquímicas que poderão resultar à estimulação da contratilidade da actomiosina, criando aberturas entre as células endoteliais, permitindo a progressão dos efeitos inflamatórios como o favorecimento da migração dos monócitos e conseqüentemente o início do processo aterogênico (58,59,61,64).

Uma vez que ocorre a oxidação da Lp(a), os macrófagos fagocitam essas lipoproteínas oxidadas e tornam-se células espumosas, dando início a uma sequência de eventos pró-inflamatórios que levam ao desenvolvimento e progressão da aterosclerose (60,61,89). Esse mecanismo de estresse oxidativo que afeta a Lp(a) é a proposta mais aceita na aterogênese, onde os macrófagos são precursores da aterosclerose (61,64,84).

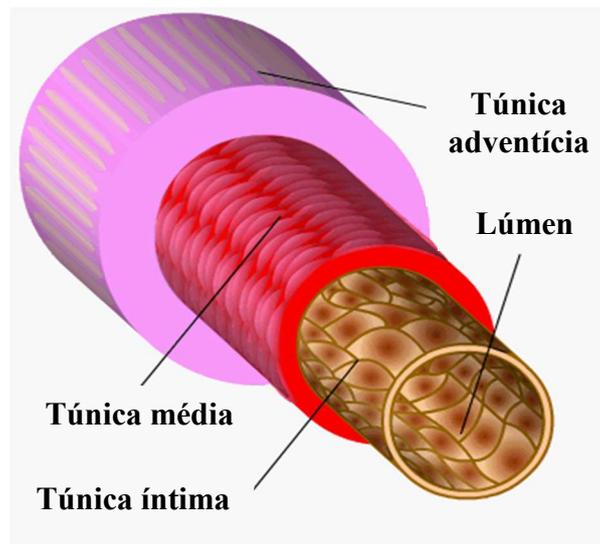
### **1.5 Lp(a) e estenose carotídea**

A avaliação da espessura mediointimal das artérias carótidas (EMIC) é amplamente reconhecida na literatura como um método não invasivo eficaz e validado para avaliar o grau de aterosclerose e doença subclínica (90). A imagem das artérias através da ultrassonografia pode identificar e quantificar a presença de doença vascular subclínica sendo importante para refinar a avaliação do risco cardiovascular nos indivíduos (91).

Quanto maior o grau de aterosclerose subclínica, maior o risco de eventos cardiovasculares futuros (92). Para prevenir morte e morbidade por DCV, há grande interesse

clínico em identificar indivíduos assintomáticos que poderiam estar sujeitos a intervenções médicas mais intensivas a fim de reduzir desfechos cardiovasculares indesejáveis (91,93,94).

Isso é possível devido a histologia da parede das artérias carótidas que apresentam três camadas: A túnica íntima, sendo a camada mais interna composta por células epiteliais, a túnica média composta principalmente por células musculares lisas longitudinais, circundadas por tecido conjuntivo, a qual fornece propriedade elástica aos vasos e a túnica adventícia a camada mais externa de tecido conectivo rico em colágeno que geralmente está incorporada no tecido circunjacente (95), conforme a figura 2. Por razão dessas características histológicas, altas concentrações séricas de lipoproteínas, incluindo a Lp(a), podem penetrar e se acumular no complexo mediointimal das artérias carótidas, dando início ao processo aterosclerótico (64,95,96).



**Figura 2: Estrutura histológica das artérias carótidas.** Figura adaptada de s-cool.co.uk.

O processo de aterosclerose está diretamente relacionado com a estenose carotídea que corresponde à diminuição ou obstrução do fluxo sanguíneo da artéria (95). Assim, o acúmulo progressivo de lipoproteínas no espaço subendotelial das artérias carótidas, seguido pelos eventos inflamatórios crônicos subjacentes pode levar ao aumento da EMIC (96). O aumento da EMIC da artéria carótida comum apresenta uma relação mais forte com a hipertensão arterial e acidente vascular encefálico, pois a camada mediointimal tende a adaptar-se a pulsação mais agressiva exercida pela hipertensão arterial, aumentando assim a sua espessura (97).

A estenose carotídea é responsável por aproximadamente 20% dos casos de isquemia cerebral, sendo relevante a avaliação da espessura das carótidas na prática clínica para estratificação de risco cardiovascular (98).

Entretanto, apesar da medida da EMIC refletir o processo de espessamento da camada mediointimal das carótidas, a aterosclerose não é o único processo que pode estar envolvido (99). Causas subjacentes como a hipertensão arterial sistêmica e o envelhecimento que leva a uma hipertrofia fisiológica da musculatura lisa, podem contribuir para um aumento da EMIC (94,100).

Já a presença de placa é caracterizada pelo processo aterosclerótico mais avançado, causado pelo processo inflamatório crônico, oxidação de lipídeos e migração das células da musculatura lisa (95,97). O núcleo necrótico da placa carotídea é um tecido heterogêneo composto por cristais de colesterol, resíduos de células apoptóticas e cálcio (101). Já a capa fibrosa é formada por tecido conjuntivo fibroso que separa o núcleo da placa do lúmen arterial (102). Alterações na capa fibrosa são características importante da vulnerabilidade da placa e predição de eventos cardiovasculares futuros (102). Em uma metanálise, Song e colaboradores (103) evidenciaram que a prevalência global de placas carotídeas é de 21%, o que corresponde a mais de 815 milhões de indivíduos com idade entre 30 a 79 anos. A presença de placas também é importante para a estratificação de risco cardiovascular, podendo auxiliar na conduta clínica nos indivíduos (99). As placas são frequentemente localizadas na carótida comum interna e na bifurcação carotídea e estão mais associadas à hiperlipidemias (95).

Alguns estudos evidenciam uma associação direta entre as concentrações de Lp(a) e placas (104,105), sendo que a Lp(a) se mostra preditora independente para a progressão de placas em altas concentrações (106). Somado a isso, Tsimikas e colaboradores (64) relataram a presença de apo (a) em placas ateroscleróticas. Portanto, um número razoável de estudos sugerem que a Lp(a) pode estar envolvida no processo de aterosclerose (64,104–108). Entretanto, outros estudos se apresentam de forma divergente, permanecendo a questão não totalmente elucidada (109–112).

Em relação a EMIC e a Lp(a), também não há um consenso de associação definido pela literatura. Enquanto alguns estudos apresentam uma associação positiva entre as concentrações de Lp(a) e EMIC, outros não apresentam tal associação. Assim, persiste um cenário indefinido entre as concentrações de Lp(a) e EMIC (113–115).

Já a presença de placas agrega um valor significativo para o risco cardiovascular, pois é específica e evidencia a doença aterosclerótica estabelecida (99). Rundek e colaboradores (116) afirmam que o aumento da EMIC pode estar associado à placa carotídea, porém a EMIC não é

preditora independente no desenvolvimento da placa, embora esses eventos frequentemente coexistam e compartilhem alguns determinantes vasculares comuns. É importante ressaltar que o que representa a doença vascular subclínica, é o substrato fisiopatológico que explica o motivo da alteração da EMIC e como ela pode ser um marcador de risco para DCV (92).

## **2.0 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA SOCIAL**

A Lp(a) tem sido estudada quanto ao seu papel no risco cardiovascular uma vez que pode estar associada à placa aterosclerótica e ao aumento da EMIC. Entretanto, o metabolismo dessa lipoproteína ainda não está completamente elucidado; neste sentido, este estudo avaliou a possível modulação de sua concentração sérica por marcadores clínicos e metabólicos, em indivíduos assintomáticos.

Este estudo se justifica pelo fato de que em determinadas situações clínicas a Lp(a) pode ter um impacto direto sobre o organismo e possivelmente sobre processos pró-aterogênicos. Em consequência, a identificação precoce de grupos de indivíduos suscetíveis poderá orientar condutas de prevenção de desfechos cardiovasculares indesejáveis.

### 3.0 OBJETIVOS

O objetivo geral do estudo foi investigar as relações entre as concentrações de Lp(a), a espessura mediointimal das carótidas (EMIC) e a presença de placas ateroscleróticas carotídeas em indivíduos assintomáticos e sem fatores de risco cardiovascular.

Além disso, os objetivos específicos buscaram avaliar outras associações da Lp(a) como possíveis contribuições para uma melhor compreensão das ações desta partícula:

- a. Com variáveis clínicas, como sexo, idade, raça, pressão arterial, parâmetros antropométricos (peso corporal, altura, circunferência de cintura, circunferência de quadril e produto de acumulação lipídica);
- b. Com variáveis bioquímicas: perfil lipídico (colesterol total, NHDL-C, HDL-C, LDL-C, VLDL-C, triglicérides, apo A-I e apoB-100), proteína C reativa ultrasensível (PCRus), glicose sérica, função renal (ureia, creatinina, ácido úrico), função hepática (alanina aminotransferase [ALT], aspartato aminotransferase [AST], fosfatase alcalina [FAL] e gama-glutamil transferase [GGT], função tireoidiana (hormônio estimulante da tireoide [TSH] e tiroxina livre [T4L]) e atividade da paraoxonase 1.

## 4.0 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 População do estudo

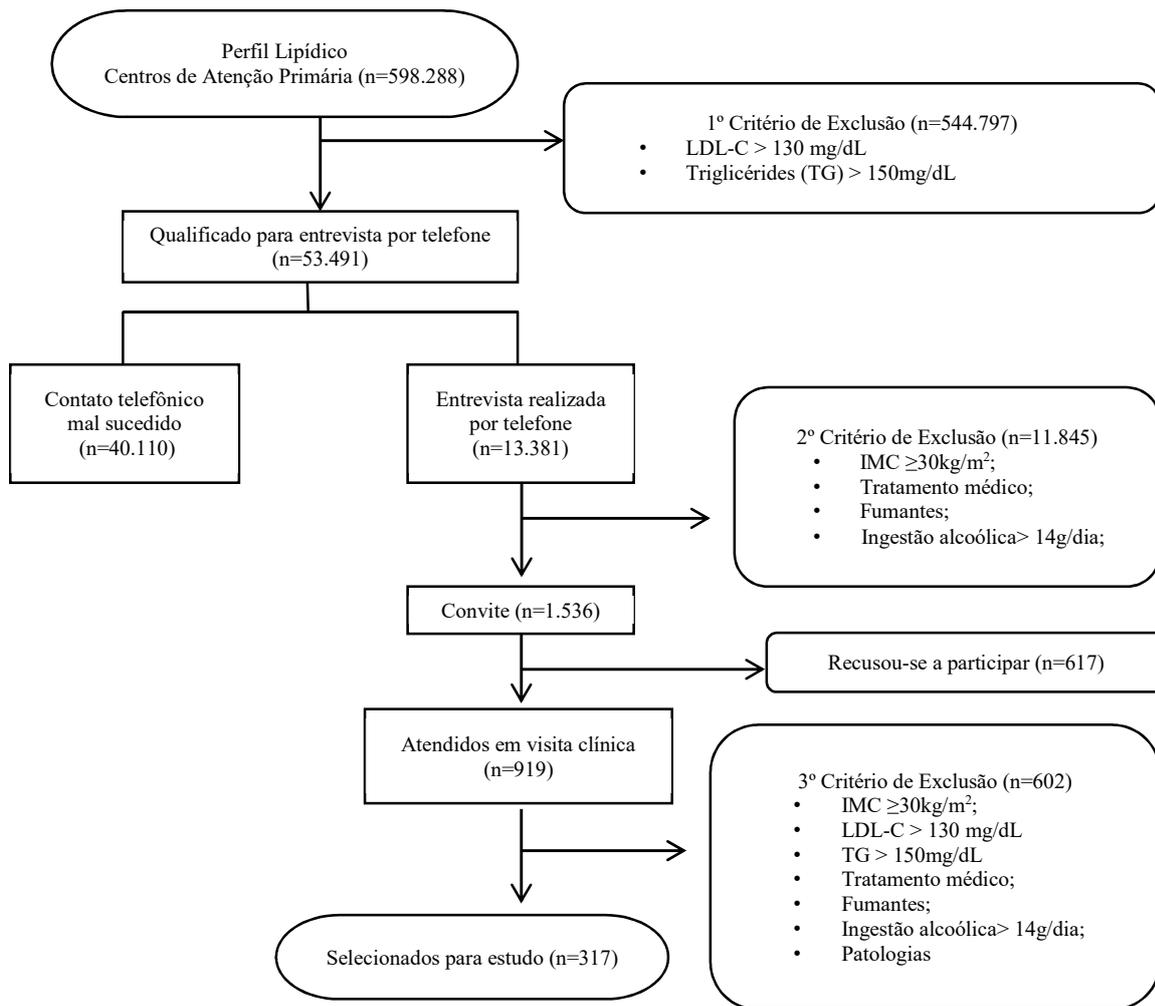
Foram incluídos neste trabalho 317 indivíduos de ambos os sexos. Esta população foi proveniente do Projeto Temático FAPESP n° 2006/60585-9, intitulado “Relação da concentração de HDL-colesterol com o metabolismo de colesterol em monócitos e no plasma humano”, executado entre os anos de 2008 e 2013 após autorização do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências Médicas (parecer n° 120/2007). Sendo assim, este é um estudo retrospectivo, que não envolveu recrutamento nem atendimento a voluntários. Desta maneira, foi solicitada e concedida a dispensa do uso de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O processo de seleção de voluntários foi previamente descrito por Parra e colaboradores (117) e envolveu o estabelecimento de um convênio com a Secretaria Municipal de Saúde de Campinas em 2008 e renovado em 2017 (em anexo 8.2). Neste convênio, a secretaria de saúde autorizou o envio mensal de resultados do perfil lipídico (colesterol total, LDL-C, HDL-C e triglicérides) de todos os indivíduos que espontaneamente buscaram atendimento médico nos 64 postos de saúde deste município. A partir destes resultados foi feita a triagem inicial para inclusão de voluntários com concentração plasmática de LDL-C e triglicérides inferiores ou iguais a 130mg/dL e 150mg/dL, respectivamente.

Conforme o fluxograma representado pela figura 1 abaixo após a triagem inicial laboratorial foi realizado contato telefônico e aplicado um questionário que permitiu avaliar os indivíduos outros critérios de inclusão do estudo: índice de massa corporal (IMC) menor ou igual a 29kg/m<sup>2</sup>, que não estavam em tratamento médico que interferisse no metabolismo lipídico, não tabagistas, ingestão de alcoólica menor que 14 gramas ao dia e possibilitando o convite a 1536 voluntários a comparecer ao Hospital de Clínicas (HC) da UNICAMP para a avaliação clínica e laboratorial inicial, chamada visita 1.

Compareceram à visita ao HC 919 indivíduos e foram feitas exclusões com base em exame clínico/laboratorial e na reavaliação dos valores pré-informados de IMC, LDL-C, triglicerídeos, se fumantes, ingestão diária de álcool >14 g e presença de diabetes mellitus, hipertensão arterial, entre outras doenças metabólicas com influência reconhecida sobre o perfil lipídico.

Nesta última etapa, foram selecionados 317 indivíduos elegíveis pelos critérios supramencionados, de ambos os sexos e com idade de 19 a 77 anos.



**Figura 3:** Fluxograma do estudo adaptado de Parra e colaboradores (117).

#### 4.2 Avaliação clínica e antropométrica

Os voluntários desta proposta compareceram ao HC/UNICAMP para realização de exame clínico completo para avaliação da saúde geral. A pressão arterial sistólica e diastólica (mmHg) foi aferida indiretamente através da artéria braquial mantendo iguais procedimentos de posição e tempo determinados (118). Todos os indivíduos responderam um questionário padronizado sobre uso de medicamentos, tabagismo, histórico familiar de DAC precoce e outras condições pré-existentes. A raça foi auto referida e respondida conforme vontade e critério do próprio voluntário como brancos, pardos, negros e amarelos.

Na admissão foi aferido o peso corporal (kg), altura (cm), circunferência de cintura (CC) e circunferência de quadril (CQ). A partir destas medidas foi calculado o índice de massa

corpórea (IMC,  $\text{kg/m}^2$ ), a razão CC/CQ e CC/altura, todos considerados marcadores de adiposidade. Adicionalmente foi estimado o produto de acumulação lipídica (LAP), por meio da fórmula [(circunferência da cintura)-65 x triglicérides] para homens e [(circunferência de cintura)-58 x triglicérides] para mulheres (119).

### 4.3 Determinações laboratoriais

O sangue venoso periférico dos voluntários foi coletado na admissão após jejum calórico de 12 horas para a separação de soro e plasma EDTA por centrifugação ( $4^\circ\text{C}$ , 1000 g, 10 minutos). Parte do soro foi analisada imediatamente na Seção de Bioquímica Clínica e Fisiologia Clínica do Hospital de Clínicas/UNICAMP e parte foi armazenada à  $-80^\circ\text{C}$  até as demais análises. As concentrações de colesterol total, colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-C), triglicérides, glicose, ácido úrico, ureia, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamilttransferase (GGT), fosfatase alcalina e creatinina foram determinados em sistema automatizado Modular<sup>®</sup>Analytics Evo (Roche Diagnostics, Burgess Hill, West Sussex, UK) utilizando reagentes Roche Diagnostics<sup>®</sup> (Mannheim, Germany) comercialmente disponíveis. O hormônio estimulante da tireoide (TSH) e a tiroxina livre (T4L) foram mensurados por eletroquimioluminescência em sistema automatizado (Elecsys 2010/Roche, Basel, Switzerland) usando reagentes Roche Diagnostics<sup>®</sup> (Mannheim, Germany).

O LDL-C foi calculado pela equação de Friedwald (120) e o colesterol da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-C) pela fórmula triglicérides/5. O colesterol não HDL (NHDL-C) foi calculado pela subtração do HDL-C do colesterol total sérico.

As apolipoproteínas A-I, B e lipoproteína (a) foram quantificadas por nefelometria em sistema automatizado BN II (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany) usando reagentes comercialmente disponíveis (Dade-Boehringer<sup>®</sup>, Deerfield, Illinois, USA).

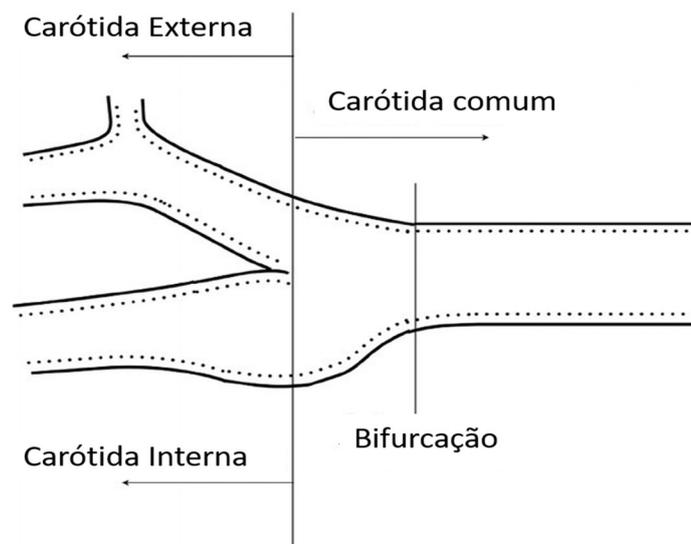
A proteína C reativa (PCR) foi avaliada por imunoturbidimetria utilizando o ensaio ultrasensível Tina-quant<sup>®</sup> CRP (Roche Diagnostics<sup>®</sup>, Mannheim, Germany).

A atividade da paraoxonase (PON1) foi determinada por método enzimático cinético, baseado na hidrólise do substrato (paraoxon, diethyl-p-nitrophenylphosphate, Sigma, St. Louis, MO, USA) pela PON1 e formação de para-nitrofenol, cuja leitura é efetuada a 405nm em espectrofotômetro (121).

#### 4.4 Avaliação da espessura mediointimal da artéria carótida

A determinação da espessura mediointimal das artérias carótidas (EMic) foi realizada por um único médico radiologista do Setor de Radiologia do Hospital de Clínicas/UNICAMP, cego aos indivíduos do estudo por ultrassonografia de modo B de alta resolução. No procedimento, os indivíduos foram avaliados em decúbito dorsal, com a cabeça elevada em cerca de 20 graus e rotação de aproximadamente 45 graus, usando um sistema de transdutores lineares de 6-9 MHz (ATL HDI 1500 e 3500 Ultrasound System, Advanced Technology Laboratories Ultrasound, Bothell, USA) (93).

O protocolo consistiu em várias medidas longitudinais de segmentos das artérias carótidas comuns, direita e esquerda, na parede distal e a 1 cm da bifurcação conforme figura abaixo.



**Figura 4:** Artéria carótida e suas subdivisões. Imagem adaptada de Tzeng YC. (122).

Os resultados correspondem à média aritmética das espessuras (em milímetros) das carótidas direita e esquerda (123). Valores iguais ou maiores que 0,9mm, equivalentes ao percentil 90 dos participantes da pesquisa, foram considerados como espessamento carotídeo (99,124). Além disso, foi relatada a presença de placas ateroscleróticas quando a EMic era maior que 50% do valor da EMic adjacente, uma protrusão maior ou igual a 0,5 mm para o lúmen do vaso, ou quando a EMic era maior que 1,5mm (91,125).

#### 4.5 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas com apoio do setor de Bioestatística da Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP, utilizando os softwares SPSS 16.0 (SPSS Inc., USA) e SAS 9.2 (SAS Institute Inc. USA).

A distribuição de todos os parâmetros foi testada com o teste de normalidade Shapiro Wilk. Dada a ausência de normalidade, foram adotados testes não paramétricos. Os resultados das análises descritivas foram expressos como mediana e intervalo interquartil (percentis 25 e 75).

A correlação entre a Lp(a) e as demais variáveis foi obtida por meio da análise do coeficiente de correlação de Spearman.

Os indivíduos do estudo foram estratificados em dois grupos, de acordo com as concentrações séricas de Lp(a), sendo menores ou iguais a 30 mg/dL consideradas concentrações desejáveis e maior que 30 mg/dL consideradas aumentadas de acordo com a diretrizes da Sociedade Cardiovascular do Canadá e outros estudos (17,18,64,80,126–128). A variável Lp(a) foi comparada entre os dois grupos pelo teste de Mann Whitney-Wilcoxon.

Foram utilizadas as análises de regressão linear univariada e multivariada para explorar a Lp(a) como variável resposta frente aos demais parâmetros sexo, raça, idade, LAP, pressão arterial sistólica e diastólica, colesterol total, razão LDL-C/HDL-C. Os resultados foram expressos pelo parâmetro ( $\beta$ ) e os coeficientes de determinação ( $R^2$  parcial e  $R^2$  total). O critério seleção *stepwise* foi aplicado nestas análises.

Análises de regressão logística univariada e multivariada para avaliar a presença de placas e EMIC maior que  $\geq 0,9$ mm, foram realizadas através do cálculo da razão de Odds, *odds ratio* (OR).

Os testes foram considerados significativos no valor de probabilidade (p) de  $\leq 0,05$  e para tendência foi considerado  $p > 0,05$  até 0,08.

## 5.0 RESULTADOS

Manuscrito submetido ao periódico **Clinica Chimica Acta**

### **Association between carotid atherosclerosis and lipoprotein (a) levels in asymptomatic subjects**

**Victor França<sup>1</sup>**, Erica Ivana Lazaro Gomes<sup>1</sup>, Edite Vieira Silva de Campos<sup>1</sup>, Vanessa Helena de Souza Zago<sup>2</sup>, Eliana Cotta de Faria<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Department of Clinical Pathology, Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas, Tessália Vieira de Camargo St, 126, Campinas, Sao Paulo, 13084-971, Brazil.

<sup>2</sup> Pontifical Catholic University of Campinas, Campinas, Sao Paulo, Brazil.

**Palavras Chaves:** Lipoproteína (a); aterosclerose carotídea; placas carotídeas.

**Keywords:** Lipoprotein (a); Carotid atherosclerosis; Carotid plaques.

**Background:** This study aimed to evaluate the associations between lipoprotein (a) (Lp(a)) levels and carotid intima-media thickness (cIMT) and with carotid plaques in asymptomatic subjects since are contradictory data regarding this relationship. **Methods:** A total of 317 normolipidemic and asymptomatic subjects (20-77 years old) were selected. The cIMT and atherosclerotic plaques were determined by B-mode ultrasonography. Mann-Whitney test were performed to compare the groups according Lp(a) levels and to explore the associations between Lp(a), carotid plaques and cIMT, were performed logistic and linear regression analysis. Were considered significant the p-values  $p \leq 0.05$ . **Results:** Studied population (51% females, median age 43 years old) presented carotid plaques and cIMT  $\geq 0,9$  mm in 23% and 18% of the participants, respectively. The group with Lp(a) levels  $> 30$ mg/dL presented significantly higher age and atherosclerotic plaques. Indeed, multivariate linear regression analysis showed a significant association between Lp(a) and age, as well as with race. On the other hand, logistic regression analysis demonstrated that the subjects with Lp(a)  $> 30$  mg/dL have significantly risk of having carotid plaques. **Conclusion:** The data from the present study indicates that Lp(a) levels above 30m/dL possible contribute to the development of carotid plaques even in apparently healthy participants.

**Keywords:** Lipoprotein (a); Carotid atherosclerosis; Carotid plaques.

## 1. Introduction

Lipoprotein (a) (Lp(a)) is a lipoprotein fraction similar to the low-density lipoprotein (LDL), however it has an apolipoprotein (a) linked to its structure. Plasma levels of Lp(a) display a wide range in the general population and its primarily controlled by hepatic synthesis of apo (a), which in turn varies according to the presence of polymorphisms in the *LPA* gene (1). Despite the similarities with plasminogen structure, apolipoprotein (a) contains only the kringle (K) IV and V in its structure. Among the subtypes of KIV, specifically subtype two of KIV (KIV2) can present a variable number of copies, reaching more than 40, thus it is possible to reach up to 34 different apo (a) isoforms (2,3).

Levels of Lp(a) are consistently associated to established cardiovascular diseases; indeed, it is considered an independent risk factor according to epidemiologic and genetic studies carried out in different populations. Despite of that, reference values are not usually adopted (1,4,5).

Lp(a) levels remain relatively constant in an individual throughout life and are not significantly affected by diet, age, and physical activity (6). Still, they vary according to ethnicity: individuals with African American descent have two to three times higher concentrations compared to Caucasians (7,8).

The association of Lp(a) and cardiovascular diseases is justified by the atherogenic risk attached to the LDL structure and aggravated by the similarity of apo (a) structure to plasminogen, that could interfere in hemostasis. This double effect may explain the role of Lp(a) in the promotion of cardiovascular diseases, eventually favoring atherogenic and prothrombotic processes (1,9).

There is evidence that high Lp(a) levels, especially above 30 mg/dL, contribute to the progression of atherosclerotic plaque and increased carotid intima-media thickness (cIMT) (10–13). However, this issue remains under debate in the face of controversies in the literature. While some studies associate Lp(a) independently with cIMT and plaques development, other studies have not shown such an association (14–18). Furthermore, given the importance and role of Lp(a) for the development of cardiovascular diseases, this study aimed to explore the association between Lp(a) levels and subclinical carotid atherosclerosis measured as cIMT as well as the presence of plaques in asymptomatic individuals.

## **2. Materials and Methods**

### **2.1 Study population**

This is a cross-section, retrospective study, for which were selected 317 individuals from both genders, aged between 19 and 77 years old, who participated in the FAPESP Thematic Project 2006/60585-9 between the years 2008 and 2013, after authorization by the Research Ethics Committee of the Faculty of Medical Sciences/UNICAMP. The study was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki.

This project was carried out in partnership with the Municipal Health Department of Campinas, who provided the laboratory results of lipid profile of individuals who spontaneously sought healthcare in the Basic Health Units of Campinas, Sao Paulo, Brazil. As previously detailed described by Parra et al (19) the volunteers were initially selected according to plasma LDL-C ( $\leq 130$  mg/dL) and triglycerides ( $\leq 150$  mg/dL) levels. Thus, they were contacted by telephone and answered a screening questionnaire regarding medication use, body mass index (BMI) and current and pre-existing diseases. The individuals who met the inclusion criteria were invited to attend for clinical and laboratory evaluation.

In admission, all volunteers signed the Informed Consent Form (ICF) before underwent a complete clinical, anthropometric, and laboratory evaluation. Peripheral venous blood samples were drawn after 12 hours fasting in EDTA containing tubes. Serum and plasma were separated by centrifugation (4°C, 1000g, 10 minutes) and stored at -80°C until analyzes.

Exclusion criteria comprised BMI higher than 30kg/m<sup>2</sup>, regular use of medical treatment, especially those which interfere in lipids metabolism (statins, fibrates, oral contraceptives, and hormonal replacement therapy) and with clinical and/or laboratorial evidences of thyroid dysfunction, dyslipidemia, diabetes, metabolic syndrome, pregnancy, hypertension, liver, kidney or pulmonary disease, alcoholism and smoking. Individuals who attend the inclusion criteria were invited to underwent carotid ultrasonography in a second visit.

### **2.2 Clinical and anthropometrical evaluation**

Volunteers answered a detailed questionnaire regarding its medical history and race was self-reported as white, black, or mixed.

Were determined the systolic and diastolic blood pressure (SBP and DBP, respectively) body weight (kg), high (cm), waist circumference (WC, cm) and hips circumference (HC, cm).

Thus, were calculated the BMI, waist-to-hip and waist-to-height ratios, all considered adiposity markers (20). The lipid accumulation product (LAP) were also calculated according the waist circumference and triglycerides levels (mmol/dL) as described previously (21).

### **2.3 Biochemical Analysis**

Total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), triglycerides, glucose, uric acid, urea, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, gamma-glutamyl transferase, creatinine and alkaline phosphatase were determined in the automatized system Modular<sup>®</sup>Analytix Evo (Roche Diagnostics, Burgess Hill, West Sussex, UK) using commercially available Roche Diagnostics<sup>®</sup> (Mannheim, Germany) assays. Thyroid stimulation hormone (TSH) and thyroxin (T4L) were also determined in automatized system Elecsys 2010 (Roche, Basel, Switzerland) using Roche Diagnostics<sup>®</sup> (Mannheim, Germany) assays.

Low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and very-low density lipoprotein cholesterol (VLDL-C) were determined by the Friedwald's equation and by triglycerides/5, respectively (22), Non-HDL cholesterol (NHDL-C) were calculated by subtracting the HDL-C levels from total cholesterol.

Apolipoproteins A-I (apo A-I), B-100 (apo B-100) and lipoprotein (a) were determined by nephelometry in the automated system BN II (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany) using commercially available assays (Dade-Boehringer<sup>®</sup>, Deerfield, IL, USA). C-reactive protein (CRP) was measured by immunoturbidimetry using the Tina-quant<sup>®</sup> CRP (latex) high-sensitivity assay (Roche Diagnostics<sup>®</sup>, Mannheim, Germany).

Plasma paraoxonase-1 activity (PON1) was evaluated through an enzymatic method using paraoxon (diethyl-p-nitrophenylphosphate, Sigma, St. Louis, MO) as substrate (23).

### **2.4 Carotid Intima-Media Thickness (cIMT) Determination and Carotid Plaques Detection**

The determination of cIMT and plaques was performed by a single trained radiologist, blind to the study participants. Determinations were made by high-resolution B-mode ultrasonography using a 6–9 MHz linear array ultrasound imaging system ATL HDI 3500 Ultrasound System (Advanced Technology Laboratories Ultrasound, Bothell, USA). The

volunteers were examined in dorsal decubitus and were performed five longitudinal measurements of segments of left and right common carotid arteries at the distal wall and 1 cm from the bifurcation. Mean cIMT (mm) was calculated as the average of these measurements and cIMT lower than 0.90 mm were considered normal (24).

In addition, it was considered as plaque the presence at least one of the following parameters: focal wall thickening with at least 0.5 mm toward the vessel lumen, focal wall thickening that is at least 50% greater than that of the surrounding vessel wall or focal region with cIMT above 1.5 mm that protrudes into the lumen that is distinct from the adjacent boundary (25,26).

## 2.5 Statistical Analysis

The statistical analyses were performed using the software SAS 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) and the SPSS 16.0 (SPSS Inc. Released 2007. SPSS for Windows, Version 16.0. Chicago, SPSS Inc.). A two-sided p-value  $\leq 0.05$  was considered as statistically significant, and p-values  $> 0.05$  and  $< 0.08$  were determined as borderline.

Data normality were verified by the Shapiro-Wilk test. Due the absence of normal distribution, numeric data was expressed as median and interquartile range and were adopted non-parametric tests. In order to explore the relationship between Lp(a) and the studied variables, Spearman correlation test was performed. In addition, the parameters were compared by the Mann-Whitney test according to Lp(a) levels ( $\leq 30\text{mg/dL}$  and  $> 30\text{mg/dL}$ ).

Univariate and multivariate linear regression analyses were performed to evaluate the influence of Lp(a) levels on the other studied parameters. Numeric variables were transformed into ranks due the absence of normal distribution and the results expressed as the coefficients of determination (partial  $R^2$  and  $R^2$ ). As well, logistic regression analysis was performed in order to determine the odds ratio (OR) for plaques presence in the studied population.

### 3. Results

Table 1 present the descriptive analysis for clinical, anthropometrical, and biochemical parameters. Total population (n =317; 51% female) were asymptomatic, with normal weight, blood pressure and plasma lipids, in accordance with the respective guidelines adopted (20,27–29). Among the volunteers, 23% present increased cIMT ( $\geq 0.90\text{mm}$ ) and 18% were identified with carotid plaques.

**Table 1:** Anthropometric, clinical, and biochemical characteristics of individuals

| Parameters                          | N       | Median (25th-75th) |
|-------------------------------------|---------|--------------------|
| Age (years)                         | 317     | 43 (34-54)         |
| Sex (Female/Male)                   | 163/154 | -                  |
| Race (White/Non-white)              | 259/58  | -                  |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )            | 317     | 23 (22-25)         |
| Waist circumference (cm)            | 317     | 74 (68-81)         |
| Hips circumference (cm)             | 316     | 92 (88-98)         |
| Waist-to-hip ratio                  | 316     | 0.8 (0.7-0.9)      |
| Waist-to-height ratio               | 317     | 0.5 (0.4-0.5)      |
| LAP (cm.mmol/L)                     | 317     | 9 (4-17)           |
| SBP (mmHg)                          | 317     | 120 (110-128)      |
| DBP (mmHg)                          | 317     | 80 (72-80)         |
| Left cIMT (mm)                      | 317     | 0.6 (0.5-0.7)      |
| Right cIMT (mm)                     | 317     | 0.6 (0.5-0.7)      |
| Mean cIMT mm)                       | 317     | 0.6 (0.5-0.7)      |
| Plaques (Yes/No)                    | 58/259  | -                  |
| Total cholesterol (mg/dL)           | 317     | 173 (153-198)      |
| HDL-C (mg/dL)                       | 317     | 58 (38-74)         |
| NHDL-C (mg/dL)                      | 317     | 117 (98-135)       |
| Triglycerides (mg/dL)               | 317     | 73 (55-95)         |
| LDL-C (mg/dL)                       | 317     | 101 (85-120)       |
| VLDL-C (mg/dL)                      | 317     | 15 (11-19)         |
| ApoA-I (mg/dL)                      | 317     | 149 (118-176)      |
| ApoB100 (mg/dL)                     | 317     | 78 (67-93)         |
| Lp(a) (mg/dL)                       | 317     | 12 (4-26)          |
| hsCRP (mg/L)                        | 313     | 0.8 (0.4-1.7)      |
| PON1 ( $\mu\text{mol}/\text{min}$ ) | 315     | 32 (13-53)         |
| Glucose (mg/dL)                     | 317     | 84 (78-88)         |
| Urea (mg/dL)                        | 317     | 30 (25-35)         |
| Creatinine (mg/dL)                  | 317     | 0.8 (0.7-0.9)      |
| Uric acid (mg/dL)                   | 317     | 4.5 (3.8-5.4)      |
| ALT (U/L)                           | 317     | 17 (13-22)         |
| AST (U/L)                           | 297     | 19 (16-23)         |
| ALP (U/L)                           | 316     | 65 (52-76)         |
| GGT (U/L)                           | 297     | 18 (13-25)         |
| TSH (uUI/mL)                        | 317     | 2 (1.4-2.9)        |

FT4 (ng/dL) 317 1.3 (1.2-1.4)

N: sample size; Non-whites include: blacks, browns, and Asian BMI: body mass index; LAP: lipid accumulation product; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; cIMT: carotid intima media thickness; HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol; NHDL-C: non-high density lipoprotein cholesterol; LDL-C: low-density lipoprotein cholesterol; VLDL-C: very low-density lipoprotein cholesterol; ApoA-I: apolipoprotein A-I; ApoB-100: apolipoprotein B100; Lp(a): lipoprotein (a); hsCRP: high sensitivity C-reactive protein; PON1: paraoxonase 1. ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; ALP: alkaline phosphatase; GGT: Gamma glutamyl transferase; TSH: thyroid stimulating hormone; FT4: free thyroxine. Literature used for reference values: Brazilian Guidelines on Obesity 2016 4th edition; World health organization - average body mass index; Brazilian Guideline for Hypertension; Update of the Brazilian guideline on dyslipidemia and prevention of atherosclerosis 2017; Guideline of the Brazilian Diabetes Society; Clinical diagnosis and treatment by laboratory methods 21 edition; Clinical practice guideline for the assessment and management of chronic kidney disease; Brazilian consensus on thyroid. Values are expressed as median and interquartile range (25th and 75th).

The variables were compared between groups stratified according to Lp(a) levels, as showed in table 2. The group with levels above 30mg/dL (21%) exhibited a higher median age, apolipoprotein B-100, PON1 activity and GGT levels. In addition, the presence of plaques and non-white individuals was also significantly more frequent in this group.

**Table 2:** Significant comparisons of demographic and biochemical variables of individuals by serum Lp(a) concentrations

| Parameters                     | Lp(a) ≤ 30 (mg/dL) |                    | Lp(a) >30 (mg/dL) |                    | p-value         |
|--------------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-----------------|
|                                | N                  | Median (25th-75th) | N                 | Median (25th-75th) |                 |
| Age (years)                    | 250                | 43 (33-53)         | 67                | 45 (36-57)         | <b>0.04</b>     |
| Race (White/No-white)          | 215/35             |                    | 44/23             |                    | <b>0.01</b>     |
| Plaque (yes/no)                | 40/210             |                    | 18/49             |                    | <b>0.04</b>     |
| <b>Parameters Biochemicals</b> |                    |                    |                   |                    |                 |
| ApoB100 (mg/dL)                | 250                | 76 (65-91)         | 67                | 86 (75-102)        | <b>&lt;0.01</b> |
| hsCRP (mg/L)                   | 247                | 0.80 (0.40-1.50)   | 66                | 0.93 (0.50-1.90)   | 0.07            |
| PON1 (µmol/min)                | 249                | 28 (12-52)         | 66                | 42 (19-57)         | <b>0.01</b>     |
| GGT (U/L)                      | 236                | 17 (13-23)         | 61                | 21 (15-30)         | <b>0.02</b>     |

N: sample size; Lp(a): lipoprotein (a); Non-whites include: blacks, browns, and Asian; ApoB-100: apolipoprotein B100; hsCRP: high sensitivity C-reactive protein; PON1: activity paraoxonase 1; GGT: Gamma glutamyltransferase; Values are expressed as interquartile range (25th and 75th); significant p-value: ≤0,05; the numerical variables were compared by the Mann-Whitney test and the non-numerical variables by chi-square; the variable Lp(a) was transformed into.

Spearman's correlation between Lp(a) and the other parameters revealed positive and significant correlations with age ( $R = 0.167$ ;  $p < 0.01$ ), SBP ( $R = 0.136$ ;  $p < 0.02$ ), DBP ( $R = 0.109$ ;  $p = 0.05$ ), ApoB-100 ( $R = 0.258$ ;  $p < 0.01$ ), PON1 ( $R = 0.108$ ;  $p = 0.05$ ), GGT ( $R = 0.123$ ;  $p = 0.03$ ), hsCRP ( $R = 0.157$ ;  $p < 0.01$ ) and a tendency towards cIMT ( $R = 0.099$ ;  $p = 0.08$ ).

The possible associations between Lp(a) and the other variables were explored in the analysis of univariate and multivariate linear regression, whose significant parameters are shown in table 3. Direct and significant associations with age and race were observed, both in the univariate and in the multivariate analysis. SBP and DBP are also directly associated with

Lp(a) in univariate analysis, however, they did not show significance in multivariate analysis. The LAP, an adiposity parameter, was indirectly related to Lp(a) in both univariate and multivariate analysis.

**Table 3:** Linear regression analysis between Lp(a) and clinical and anthropometric parameters.

| Parameters            | Univariate |       |         | Multivariate |                         |                       |         |
|-----------------------|------------|-------|---------|--------------|-------------------------|-----------------------|---------|
|                       | N          | B     | p-value | $\beta$      | R <sup>2</sup> -partial | R <sup>2</sup> -total | p-value |
| Age (years)           | 317        | 1.21  | <0.01   | 1.35         | 0.02                    | 0.07                  | <0.01   |
| Race (White/No-white) | 317        | 34.73 | <0.01   | 32.07        | 0.04                    |                       | 0.01    |
| LAP (cm,mmol/L)       | 317        | -0.65 | 0.14    | -0.87        | 0.01                    |                       | 0.05    |
| SBP (mmHg)            | 317        | 0.93  | 0.01    |              |                         |                       |         |
| DBP (mmHg)            | 317        | 1.00  | 0.02    |              |                         |                       |         |

Linear regression analysis; N: number of individuals;  $\beta$ : estimated parameter; significant p-value:  $\leq 0.05$ ; Non-whites include blacks, browns, and Asian; LAP: product of lipid accumulation; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure.

Table 4 shows the analysis of univariate and multivariate logistic regression to explore the association between the presence of plaques, Lp(a) and other parameters studied. With each year of life, the odds ratio for plaque increases by about 1.11 times (11%). About non-white individuals, the odds ratio for plaque is approximately 1.97 times (97%) in the univariate analysis, and 2.5 times (250%) in the multivariate. Regarding Lp(a) concentrations above 30 mg/dL, there is a 2% increase in the odds ratio for plaque in the univariate analysis.

**Table 4:** Univariate and multivariate logistic regression analysis for the presence of plaques

| Parameters            | Univariate |          |         | Multivariate |          |         |
|-----------------------|------------|----------|---------|--------------|----------|---------|
|                       | OR         | CI (95%) | p-value | OR           | CI (95%) | p-value |
| Age (years)           | 1.11       | 1.08-1.1 | <0.01   | 1.11         | 1.08-1.1 | <0.01   |
| Race (White/No-white) | 1.97       | 1.0-3.9  | 0.05    | 2.50         | 1.2-5.6  | 0.02    |
| Lp(a) (mg/dL)         | 1.02       | 1.0-1.0  | 0.02    |              |          |         |

OR: Odds Ratio; CI: confidence interval (95%); Non-whites include: blacks, browns and Asian; Lp(a): lipoproteína (a); p-value  $\leq 0,05$ ; Lp(a) was transformed into.

## 4. DISCUSSION

The present study investigated the possible relationships between plasma Lp(a) levels and subclinical atherosclerosis determined by cIMT, as well as the presence of established atherosclerotic disease, detected by the presence of carotid plaques in asymptomatic adults. The group selected for this study consisted of individuals of both genders, predominantly self-declared as white (82%) and clinically assessed as normotensive, normolipidemic and eutrophic, with no evidence of pre-established cardiovascular diseases or other pathologies. In addition, the group consists of adults (With a median age of 43 years), of whom carotid plaques were reported in 18%.

The contribution of cIMT measures to the prediction of cardiovascular risk is widely described in the literature. In addition, the evaluation of the presence of plaques adds significant value to this determination, since indirectly illustrate the heterogeneity of the atherosclerotic disease. On the one hand, the cIMT reflects the thickening process of the intima-medial layer, an area that normally increases with age and smooth muscle hypertrophy. In contrast, the presence of plaques is specific and shows the established atherosclerotic disease (30).

The occurrence of carotid atherosclerotic plaques is recognized to increase with age, however, the prevalence in populations can vary significantly according to the methods applied for its determination and the definition of plaque adopted. Another sensitive point is the population itself, concerning the presence of comorbidities, lifestyle, type of diet, among other factors. For example, Ihle-Hansen and colleagues (31) evaluated cIMT and the presence of plaques in 3683 individuals aged between 63 and 65 years; in this group, 87% had carotid plaques. Not surprisingly, the presence of risk factors was significant, of which hypertension (62%), hypercholesterolemia (53%), obesity (23%) and diabetes melitus (11%) stand out. In this sense, age plus the presence of these other well-established risk factors explain this high prevalence of plaque. Other studies in the general population corroborate the high prevalence of atherosclerotic plaques according to the age group and the presence of other risk factors, whose severity increases significantly as these clinical aspects add up (32). Recently, Song and collaborators evaluated from a robust meta-analysis that the prevalence of atherosclerotic plaques in the population between 30 and 79 years is 21.13%, which is equivalent to more than 800 million people (33).

Studies assessing the cIMT and the prevalence of the presence of plaques in asymptomatic individuals and their association with non-established risk factors, such as Lp(a),

are scarce. A study with 6617 Chinese, with no history of CVD, diabetes mellitus, hypertension, and smoking found a mean cIMT of 0.60 mm, considering the age group in the group of  $49.7 \pm 5.3$  (34). Regarding plaques, the prevalence was 9%, lower than that observed in the present study. This finding, on the one hand, points to the possibility of the presence of an underlying factor, hypothetically Lp(a), which, apart from traditional factors, may contribute to this relatively high prevalence. On the other hand, it shows the challenge in interpreting parameters that vary according to the technique used, location and number of measurements, number of individuals enrolled and analysis software algorithm. In this sense, it is possible to state that cIMT and plaques are unlikely to be directly compared, even among groups of healthy individuals.

As expected, age was a factor strongly associated with the presence of carotid plaques in this study, although it was composed of healthy individuals. However, the association between Lp(a) levels higher than 30mg/dL and the odds ratio for plaques in the univariate analysis suggests a relationship that can be explored. Tsimikas and colleagues (1) reported the presence of apo (a) in atherosclerotic plaques, suggesting that Lp(a) in high concentrations may contribute to plaque progression. There was a positive association between Lp(a) and carotid atherosclerosis in young adults with ischemic stroke in individuals aged 16 to 54 years in France (12). The Lp(a) has also been associated with the development of atherosclerosis in individuals with primary hypercholesterolemia and Lp(a) concentrations greater than 50mg/dL in a group of individuals aged 18 to 80 years in Spain (35). Hippe and colleagues (13) reported that Lp(a) concentrations greater than 64 mg/dL were independent predictors of carotid plaque progression in individuals with established cardiovascular disease, even maintaining serum LDL-C concentrations below 70mg/dL. However, Huffman and colleagues (18) did not find an association between Lp(a) concentrations and atherosclerosis among South Asian Americans aged 40 to 84 years without cardiovascular disease.

This issue continues to be discussed and is controversially presented in the literature. Some studies independently associate Lp(a) with cIMT and carotid atherosclerotic plaques, other studies, however, do not show this correlation, and others in turn report that Lp(a) is more associated with established CVD than in asymptomatic individuals, once that Lp(a) concentrations tend to increase in chronic inflammatory processes, such as rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus (2,3,14).

In this study, no correlation was found between Lp(a) and cIMT, even though it is a sensitive issue, Knoflach and collaborators (36) found a direct association between Lp(a) and cIMT in asymptomatic Austrian women aged 18 to 22, in the same way the study by Schreiner

and collaborators (37) found a positive correlation between Lp(a) and cIMT in Americans aged 45 to 64, suggesting that Lp(a) may be associated with development subclinical carotid atherosclerosis. However, Calmarza and colleagues (16) did not find such an association in a study of 172 asymptomatic Spanish individuals aged 43 to 93 years. This association is, in fact, a sensitive point for analysis, since the increase in cIMT can be associated with carotid plaque, however cIMT cannot be considered an independent predictor of the development of carotid plaque, although these events often coexist and share some vascular determinants common (38).

It is agreed that the plasma concentrations of Lp(a) are genetically determined, more specifically by the presence of polymorphisms in the *LPA* gene that determine the size of the type 2 kringle IV peptide chain (KIV-2) (3). Thus, the larger the size of KIV-2, the greater the Lp(a); in contrast, its plasma concentration is lower. This reverse process is associated with the easier removal of larger particles, while smaller ones tend to stay in the circulation for longer periods (39). The removal process is primarily hepatic; however, the mechanisms are not yet fully understood. Evidence points to the participation of LDLR, including as a therapeutic target for reducing plasma Lp(a) concentrations. Despite of that, many contradictions regarding the results observed with statins and PCSK9 inhibitors must be considered (1,3).

Given the complexity of this lipoprotein, reference values have not been defined for the general population; in fact, studies in different ethnic and population groups point to a wide range. Thus, some studies indicate that values above 50mg/dL (125nmol/L) or the 80th percentile are considered high (39). Other studies, on the other hand, adopt the 30 mg/dL cut (1,8,39–43). In fact, 21% of the recruited individuals had Lp(a) above this value. Some studies show that around 30% of the world population has high Lp(a), which represents approximately two billion individuals (1,9,18).

The Lp(a) concentrations in the asymptomatic individuals of the present study were expressed with a median of 12mg/dL (4-26th percentiles), indicating great similarity with other Brazilian studies. Maranhão and collaborators reported that a group of asymptomatic individuals had concentrations of 23.9 mg/dL compared to individuals with coronary disease who had plasma concentrations of 41.9 mg/dL (44). In a study with Brazilian individuals aged 46 to 68 years, to verify a possible association between concentrations of Lp(a) and coronary artery disease, the control group showed average concentrations of 11mg/dL of Lp(a) (45). Another study carried out with in the city of Ouro Preto in Minas Gerais, with 400 asymptomatic individuals, showed Lp(a) concentrations with a median of 18.11mg/dL with an average age of 45 years (46). Schoolchildren with an average age of 10 years also demonstrated Lp(a) concentrations with a median of 25.5 mg/dL in the study by Cândido and collaborators

(46). A recent study involving 4,140 individuals in a cardiovascular reference center in São Paulo, showed an average Lp(a) concentration of 24.8mg/dL in the research participants (47).

In addition, interesting relationships were observed in this study between Lp(a) levels and race. Several shreds of evidence in the literature points to that non-white individuals have higher concentrations of Lp(a), about two to three times higher than Caucasians or Orientals, revealing that there is ethnic variability between different population groups, whose underlying causes have not yet been fully understood (3,48).

It was possible to perceive in this study that serum Lp(a) concentrations in non-white individuals were higher, with a median of 22.85mg/dL (5-36 percentiles), and white individuals with a median of 11.10mg/dL (4-22 percentiles), and with the significance of  $p < 0.01$  when compared by the Mann-Whitney test. These concentrations can be partially explained by variations in the *LPA* locus, mainly by the polymorphism of the apo (a) gene (*LPA*; MIM 152200). Among the variants, notably Schmidt and colleagues evaluated three SNPs and reported that they contribute to different concentrations of Lp(a) in African-American and Caucasian individuals (48). Two SNPs (T3888P and G + 1/inKIV-8A), suppressing the Lp(a) set, were more common in Caucasians, while the third SNP (G-21A) increased the activity of promoting apo (a), this being more common in African Americans (3).

Other studies looked at different populations and found low concentrations also in non-Hispanic Caucasians with a median of 12mg/dL (5-32 percentiles), in the Chinese with a median of 11mg/dL (5-26 percentiles), Japanese with a median of 13 mg/dL (5-26 percentiles), and Hispanics with a median of 19 mg/dL (8-43 percentiles) (1,3,9,48). Even with different concentrations and isoforms in some populations, Lp(a) was associated positively and similarly to the risk of cardiovascular events in a 20-year longitudinal follow-up study among Caucasian individuals and individuals of African descent (1). Given this, there is still a lot of discussion about the concentrations considered adequate for Lp(a), due to the great miscegenation of the population, mainly in some countries like Brazil (49).

Other factors such as age, sex, and environmental conditions do not have a major influence on Lp(a) concentrations in most studies. However, in this study, Lp(a) concentrations greater than 30mg/dL were found in older individuals. Some studies suggest that among adults, Lp(a) concentrations have been somewhat variable, and an association between Lp(a) and longevity has been suggested among the elderly (50–52). On the other hand, a substantial number of studies report that there is not an association between age and Lp(a) concentrations, however, the question of the extent to which age can influence Lp(a) concentrations remains uncertain (49,51).

In this study, there was no significant difference between the concentrations of Lp(a) and sex. However, a meta-analysis with 36 studies showed that females had higher concentrations of Lp(a) 12% compared to males (53). Likewise, it occurred with the BMI, where there were no significant results for the BMI classes, but it was the LAP, also considered a parameter of adiposity, which was indirectly related to the Lp(a). A Japanese study, with 2,997 asymptomatic individuals aged between 40 and 69 years, in which Lp(a) concentrations were shown to be lower in non-obese individuals ( $BMI \geq 26$ ) (54).

The concentration of GGT in this study was directly correlated with the concentrations of Lp(a), since there is a similarity between Lp(a) and the LDL particle, some studies propose that Lp(a) also undergoes an oxidative process as LDL and during the atherosclerotic process and GGT activity can increase to compensate for the increase in oxidative stimulants, increasing the synthesis of glutathione, which is an important antioxidant (1,55). A study conducted by Ghatge and collaborators (56) also found a positive correlation between the concentrations of Lp(a) and GGT.

In this study, PON1 also showed a significant correlation and increased activity in individuals who had Lp(a) concentrations above 30mg/dL. It was described in a study with individuals who had moderate to high concentrations of Lp(a). It is not yet clear whether PON1 concentrations may have any benefit in individuals with high concentrations of Lp(a) (57). The serum concentrations of hsCRP were also correlated to Lp(a), and the comparison between individuals with presence and absence of plaques was significant by the Man Whitney test ( $p < 0.02$ ), which may suggest a possible underlying inflammatory process implied by atherosclerosis (55,58).

This study has certain limitations since it has not been analyzed genetic factors that influence the concentration of Lp(a) and identification of apo (a) isoforms. Another limitation is that only carotid ultrasound was performed and no other arterials systems susceptible to atherosclerosis were observed. Therefore, the outcome could have been different or increased with the present results, if the coronary and femoral arteries were analyzed. A strict criterion was adopted for the selection of participants, which caused a limited number of individuals. The analysis of Lp(a) was performed by nephelometry, considered the gold standard for analysis of Lp(a).

This study pointed out that Lp(a) concentrations above 30mg/dL were associated with the presence of carotid plaques in asymptomatic individuals with a median age of 43 years, and 2% odds ratio for the presence of plaques. In fact, the relationship between Lp(a) and CVD in general, is well established in the literature, however, the strength of these associations and the

mechanism in which Lp(a) influences the atherosclerotic process must be explored in other studies.

## **5. ACKNOWLEDGEMENTS**

We acknowledge the Municipal Health Department of Campinas for furnishing the data and authorization of their use. We thank Dr. Jamal Baraccat from the Department of Radiology at the School of Medical Sciences, State University of Campinas (UNICAMP), for performing the carotid measurements. We thank the Statistics Department, Faculty of Medical Sciences, UNICAMP for the statistical assistance. This work was supported by the State of Sao Paulo Research Foundation (FAPESP) grant number n°2006/60585-9 and by Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES)- Brazil – Grant number 88882.434895/2019-01.

## REFERENCES

1. Tsimikas S. A Test in Context: Lipoprotein(a). **J Am Coll Cardiol** [Internet]. 2017 Feb [cited 2019 Jun 27];69(6):692–711.
2. Maranhão RC, Carvalho PO, Strunz CC, Pileggi F. Lipoprotein (a): Structure, Pathophysiology and Clinical Implications. **Arq Bras Cardiol** [Internet]. 2014 [cited 2019 Jun 14];103(1):76–84.
3. Jawi MM, Frohlich J, Chan SY. Lipoprotein(a) the Insurgent: A New Insight into the Structure, Function, Metabolism, Pathogenicity, and Medications Affecting Lipoprotein(a) Molecule. **J Lipids** [Internet]. 2020 Feb 1;2020:1–26.
4. Tada H, Takamura M, Kawashiri M. Lipoprotein(a) as an Old and New Causal Risk Factor of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. **J Atheroscler Thromb** [Internet]. 2019 Jul 1;26(7):583–91.
5. Kamstrup PR, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Lipoprotein(a) and risk of myocardial infarction – genetic epidemiologic evidence of causality. **Scand J Clin Lab Invest** [Internet]. 2011 Apr 13;71(2):87–93.
6. Enkhmaa B, Anuurad E, Berglund L. Lipoprotein (a): impact by ethnicity and environmental and medical conditions. **J Lipid Res** [Internet]. 2016 Jul 1 [cited 2019 Oct 30];57(7):1111–25.
7. Ma L, Chan DC, Ooi EMM, Barrett PHR, Watts GF. Fractional turnover of apolipoprotein(a) and apolipoprotein B-100 within plasma lipoprotein(a) particles in statin-treated patients with elevated and normal Lp(a) concentration. **Metabolism** [Internet]. 2019 Jul [cited 2019 Sep 11];96:8–11.
8. Dias R, Maranhão RC. Lipoproteína (a) e doença arterial coronária. **Atheros** 2002;13(3):86–7.
9. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ray K, Borén J, Andreotti F, Watts GF, et al. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. **Eur Heart J** [Internet]. 2010 Dec;31(23):2844–53.
10. Vlad C, Burlacu A, Florea L, Artene B, Badarau S, Covic A, et al. A comprehensive review on apolipoproteins as nontraditional cardiovascular risk factors in end-stage renal disease: current evidence and perspectives. **Int Urol Nephrol** [Internet]. 2019 Jul 22 [cited 2019 Jul 11];51(7):1173–89.
11. Orsó E, Schmitz G. Lipoprotein(a) and its role in inflammation, atherosclerosis and malignancies. **Clin Res Cardiol Suppl** [Internet]. 2017 Mar 10;12(S1):31–7.
12. Nasr N, Ruidavets JB, Farghali A, Guidolin B, Perret B, Larrue V. Lipoprotein (a) and Carotid Atherosclerosis in Young Patients With Stroke. **Stroke** [Internet]. 2011 Dec;42(12):3616–8.
13. Hippe DS, Phan BAP, Sun J, Isquith DA, O’Brien KD, Crouse JR, et al. Lp(a) (Lipoprotein(a)) Levels Predict Progression of Carotid Atherosclerosis in Subjects With Atherosclerotic Cardiovascular Disease on Intensive Lipid Therapy. **Arterioscler Thromb Vasc Biol** [Internet]. 2018 Mar;38(3):673–8.
14. Kotani. Carotid Intima-Media Thickness in Asymptomatic Subjects With Low Lipoprotein(a) Levels. **J Clin Med Res** [Internet]. 2012 Apr;4(2):130–4.

15. Ooi EM, Ellis KL, Barrett PHR, Watts GF, Hung J, Beilby JP, et al. Lipoprotein(a) and apolipoprotein(a) isoform size: Associations with angiographic extent and severity of coronary artery disease, and carotid artery plaque. **Atherosclerosis** [Internet]. 2018 Aug;275:232–8.
16. Calmarza P, Trejo J, Lapresta C, Lopez P. Relationship between lipoprotein(a) concentrations and intima-media thickness: a healthy population study. **Eur J Prev Cardiol** [Internet]. 2012 Dec 13;19(6):1290–5.
17. Calmarza P, Trejo JM, Lapresta C, Lopez P. Lack of association between carotid intima-media thickness and apolipoprotein (a) isoforms in a sample of Spanish general population. **J Cardiol** [Internet]. 2013 May 1 [cited 2019 May 21];61(5):372–7.
18. Huffman MD, Kandula NR, Baldrige AS, Tsai MY, Prabhakaran D, Kanaya AM. Evaluating the Potential Association Between Lipoprotein(a) and Atherosclerosis (from the Mediators of Atherosclerosis Among South Asians Living in America Cohort). **Am J Cardiol** [Internet]. 2019 Mar 15 [cited 2019 May 21];123(6):919–21.
19. Parra ES, Zago VH de S, Panzoldo NB, Alexandre F, Vendrame F, Virginio VW de M, et al. Development of a clinical laboratory data base of hyper and hypo alpha lipoproteins in Campinas-SP and neighboring region. **J Bras Patol e Med Lab** [Internet]. 2013 Feb [cited 2020 Jul 30];49(1):26–33.
20. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica Diretrizes brasileiras de obesidade 2016 / ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica [Internet]. São Paulo; 2016 [cited 2020 Mar 4].
21. Bergman RN, Stefanovski D, Buchanan TA, Sumner AE, Reynolds JC, Sebring NG, et al. A Better Index of Body Adiposity. **Obesity** [Internet]. 2011 May 3;19(5):1083–9.
22. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. **Clin Chem** [Internet]. 1972 [cited 2019 Jun 14];18(6).
23. Kleemola P, Freese R, Jauhiainen M, Pahlman R, Alfthan G, Mutanen M. Dietary determinants of serum paraoxonase activity in healthy humans. **Atherosclerosis** [Internet]. 2002 Feb [cited 2020 Jul 30];160(2):425–32.
24. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, et al. Use of Carotid Ultrasound to Identify Subclinical Vascular Disease and Evaluate Cardiovascular Disease Risk: A Consensus Statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force Endorsed by the Society for Vascular. **J Am Soc Echocardiogr** [Internet]. 2008 Feb 1 [cited 2020 Oct 15];21(2):93–111.
25. Freire CMV, Alcantara ML de, Santos SN dos, Amaral SI do, Veloso O, Porto CLL, et al. Recomendação para a Quantificação pelo Ultrassom da Doença Aterosclerótica das Artérias Carótidas e Vertebrais: Grupo de Trabalho do Departamento de Imagem Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia – DIC - SBC. **Arq Bras Cardiol - Imagem Cardiovasc** [Internet]. 2015;28:1–64.
26. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER, et al. Use of Carotid Ultrasound to Identify Subclinical Vascular Disease and Evaluate Cardiovascular Disease Risk: A Consensus Statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force Endorsed by the Society for Vascular. **J Am Soc Echocardiogr** [Internet]. 2008 Feb;21(2):93–111.

27. OMS Índice de Massa Corporal Médio (IMC) [Internet]. [cited 2020 Mar 4]. Available from: [https://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/bmi\\_text/en/](https://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/bmi_text/en/)
28. Malachias M, Souza W, Plavnik F, Rodrigues C, Brandão A, Neves M, et al. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. **Arq Bras Cardiol** [Internet]. 2016 [cited 2020 Mar 4];107(3).
29. Faludi A, Izar M, Saraiva J, Chacra A, Bianco H, Afíune Neto A, et al. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose - 2017. **Arq Bras Cardiol** [Internet]. 2017 [cited 2019 Jun 26];109(1):1–76.
30. Naqvi TZ, Lee M-S. Carotid Intima-Media Thickness and Plaque in Cardiovascular Risk Assessment. **JACC Cardiovasc Imaging** [Internet]. 2014 Oct 1 [cited 2019 Jun 7];7(10):1025–38.
31. Ihle-Hansen H, Vigen T, Ihle-Hansen H, Rønning OM, Berge T, Thommessen B, et al. Prevalence of carotid plaque in a 63- to 65-Year-Old Norwegian cohort from the general population: The ACE (Akershus Cardiac Examination) 1950 study. **J Am Heart Assoc** [Internet]. 2018 May 15 [cited 2020 Jul 23];7(10).
32. Sturlaugsdottir R, Aspelund T, Bjornsdottir G, Sigurdsson S, Thorsson B, Eiriksdottir G, et al. Prevalence and determinants of carotid plaque in the cross-sectional REFINE-Reykjavik study. **BMJ Open** [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2020 Jul 23];6(11):e012457.
33. Song P, Fang Z, Wang H, Cai Y, Rahimi K, Zhu Y, et al. Global and regional prevalence, burden, and risk factors for carotid atherosclerosis: a systematic review, meta-analysis, and modelling study. **Lancet Glob Heal** [Internet]. 2020 May [cited 2020 Jul 23];8(5):e721–9.
34. Arnold M, Linden A, Clarke R, Guo Y, Du H, Bian Z, et al. Carotid Intima-Media Thickness but Not Carotid Artery Plaque in Healthy Individuals Is Linked to Lean Body Mass. **J Am Heart Assoc** [Internet]. 2019 Aug 6;8(15).
35. Bea AM, Mateo-Gallego R, Jarauta E, Villa-Pobo R, Calmarza P, Lamiquiz-Moneo I, et al. La lipoproteína(a) se asocia a la presencia de arteriosclerosis en pacientes con hipercolesterolemia primaria. **Clínica e Investig en Arterioscler** [Internet]. 2014 Jul 1 [cited 2019 May 21];26(4):176–83.
36. Knoflach M, Kiechl S, Penz D, Zangerle A, Schmidauer C, Rossmann A, et al. Cardiovascular Risk Factors and Atherosclerosis in Young Women. **Stroke** [Internet]. 2009 Apr 1;40(4):1063–9.
37. Schreiner PJ, Heiss G, Tyroler HA, Morrisett JD, Davis CE, Smith R. Race and Gender Differences in the Association of Lp(a) With Carotid Artery Wall Thickness. **Arterioscler Thromb Vasc Biol** [Internet]. 1996 Mar [cited 2020 Aug 25];16(3):471–8.
38. Rundek T, Gardener H, Della-Morte D, Dong C, Cabral D, Tiozzo E, et al. The relationship between carotid intima-media thickness and carotid plaque in the Northern Manhattan Study. **Atherosclerosis** [Internet]. 2015 Aug 1 [cited 2020 Mar 13];241(2):364–70.
39. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ray K, Borén J, Andreotti F, Watts GF, et al. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. **Eur Heart J** [Internet].

- 2010 Dec;31(23):2844–53.
40. Anderson TJ, Grégoire J, Pearson GJ, Barry AR, Couture P, Dawes M, et al. 2016 Canadian Cardiovascular Society Guidelines for the Management of Dyslipidemia for the Prevention of Cardiovascular Disease in the Adult. **Can J Cardiol** [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2019 May 21];32(11):1263–82.
  41. Riches K, Porter KE. Lipoprotein(a): Cellular Effects and Molecular Mechanisms. **Cholesterol** [Internet]. 2012 Sep 6 [cited 2020 Feb 28];2012:1–10.
  42. Gambhir JK, Kaur H, Prabhu KM, Morrisett JD, Gambhir DS. Association between lipoprotein(a) levels, apo(a) isoforms and family history of premature CAD in young Asian Indians. **Clin Biochem** [Internet]. 2008 May 1 [cited 2020 Feb 27];41(7–8):453–8.
  43. Kostner KM, Kostner GM. Lipoprotein (a): a historical appraisal. **J Lipid Res** [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2019 May 21];58(1):1–14.
  44. Maranhão R, Arie S, Vinagre CG, Guimarães JB, Strunz C, Pileggi F. [Lipoprotein (a) plasma levels in normal subjects and patients with coronary disease confirmed by coronary cineangiography]. **Arq Bras Cardiol** [Internet]. 1991 Feb [cited 2020 Mar 9];56(2):121–5.
  45. Lima LM, Carvalho MDG, Loures-Vale AA, Fernandes AP, Mota APL, Neto CPDF, et al. Níveis plasmáticos elevados de lipoproteína(a) correlacionados com a gravidade da doença arterial coronariana em pacientes submetidos à angiografia. **Arq Bras Cardiol** [Internet]. 2006 Sep [cited 2020 Jul 23];87(3):260–6.
  46. Cândido APC, Ferreira S, Lima AA, Nicolato RL de C, Freitas SN de, Brandão P, et al. Lipoprotein(a) as a risk factor associated with ischemic heart disease: Ouro Preto Study. **Atherosclerosis** [Internet]. 2007 Apr 1 [cited 2020 Jul 24];191(2):454–9.
  47. Mizuta MH, Miname MH, Rocha VZ, Chacra APM, Salgado W, Santos RD. Analysis of elevated lipoprotein (a) levels in a referral cardiovascular center in sao paulo, brazil. **J Am Coll Cardiol** [Internet]. 2020 Mar 24 [cited 2020 Jul 23];75(11):2031.
  48. Schmidt K, Noureen A, Kronenberg F, Utermann G. Structure, function, and genetics of lipoprotein (a). **J Lipid Res** [Internet]. 2016 Aug 1 [cited 2019 Jun 14];57(8):1339–59.
  49. Enkhmaa B, Anuurad E, Berglund L. Lipoprotein (a): impact by ethnicity and environmental and medical conditions. **J Lipid Res** [Internet]. 2016 Jul 1;57(7):1111–25.
  50. Srinivasan SR, Dahlen GH, Jarpa RA, Webber LS, Berenson GS. Racial (black-white) differences in serum lipoprotein (a) distribution and its relation to parental myocardial infarction in children. Bogalusa Heart Study. **Circulation** [Internet]. 1991 Jul;84(1):160–7.
  51. Lippi G, Targher G, Salvagno GL, Montagnana M, Franchini M, Guidi GC. Lipoprotein(a) and ageing. **Clin Lab** [Internet]. 2010 [cited 2020 Mar 6];56(9–10):463–6.
  52. Zlatohlávek L, Zídková K, Vrablík M, Haas T, Prusíková M, Svobodová H, et al. Lipoprotein(a) and its position among other risk factors of atherosclerosis. **Physiol Res** [Internet]. 2008 [cited 2020 Mar 16];57(5):777–83.

53. Erqou, S Kaptoge, Perry PL D, AE. Lipoprotein(a) Concentration and the Risk of Coronary Heart Disease, Stroke, and Nonvascular Mortality. **JAMA** [Internet]. 2009 Jul 22 [cited 2019 Sep 11];302(4):412.
54. Nago N, Kayaba K, Hiraoka J, Matsuo H, Goto T, Kario K, et al. Lipoprotein(a) Levels in the Japanese Population: Influence of Age and Sex, and Relation to Atherosclerotic Risk Factors: The Jichi Medical School Cohort Study. **Am J Epidemiol** [Internet]. 1995 May 1 [cited 2020 Mar 6];141(9):815–21.
55. Dogan A, Arslan A, Yucel H, Aksoy F, Icli A, Ozaydin M, et al. Gamma glutamyltransferase, inflammation and cardiovascular risk factors in isolated coronary artery ectasia. **Rev Port Cardiol** [Internet]. 2016 Jan;35(1):33–9.
56. Ghatge M, Sharma A, Vangala RK. Association of  $\gamma$ -glutamyl transferase with premature coronary artery disease. **Biomed Reports** [Internet]. 2016 Mar 1 [cited 2020 Sep 16];4(3):307–12.
57. Zychlinski AV, Kleffmann T, Williams MJA, McCormick SP. Proteomics of Lipoprotein(a) identifies a protein complement associated with response to wounding. **J Proteomics** [Internet]. 2011 Nov 18 [cited 2020 Jul 22];74(12):2881–91.
58. Silva D de O, Albuquerque LC, Narvaes LB, Goldani MA, Pereira GC. Proteína C reativa e instabilidade clínica na doença obstrutiva de artérias carótidas. **J Vasc Bras** [Internet]. 2007 Jun [cited 2020 Mar 12];6(2):124–9.

## 6.0 CONCLUSÃO

Mostramos neste estudo evidências sugerindo que a Lp(a) se associa positivamente à presença de placas ateroscleróticas carotídeas (regressão logística univariada). Estudos similares em diferentes populações são controversos permanecendo uma questão a ser debatida. Possíveis causas subjacentes como a presença de isoformas de Lp(a) e suas mutações genéticas relacionadas poderiam dar suporte à estas divergências, sem minimizar as características aterogênicas potenciais já estabelecidas para essa lipoproteína.

Não houve associações significativas nas análises de (regressão linear multivariada) entre as concentrações de Lp(a) e EMIC, mas mostramos correlação (correlação de Spearman) com a EMIC tendendo a se correlacionar positivamente com a Lp(a) ( $r=0.099$ ;  $p = 0.08$ ). Resultados controversos estão também presentes na literatura quanto às associações da EMIC.

Com relação à fatores clínicos e antropométricos (regressão logística multivariada) observou-se que para cada acréscimo de um ano de vida houve o aumento da razão de chances para ocorrência de placas de 11%. Indivíduos não brancos, representados por 18% dos participantes, mostraram uma razão de chance de ocorrência de placas 2,5 vezes maior em comparação aos brancos. Ambos os resultados estão confirmados na literatura.

Quando estratificados por concentrações de Lp(a) o subgrupo com valores acima de 30 (mg/dL) se caracterizou como de indivíduos com idade mais alta, maior número de placas ateroscleróticas, predomínio de não brancos e maiores concentrações de ApoB100, PON e GGT indicando em parte um perfil aterogênico.

As concentrações de Lp(a) se correlacionaram com a pressão arterial sistêmica, GGT, atividade da PON1 (regressão linear multivariada). Uma hipótese seria a de que durante o processo aterosclerótico, a GGT possa aumentar sua atividade possivelmente para compensar o aumento de componentes oxidativos gerados. Ainda não está claro na literatura se a PON1 pode exercer algum benefício aos indivíduos com altas concentrações de Lp(a). Houve correlação inversa das concentrações de Lp(a) com adiposidade medida como LAP.

Este estudo foi desenvolvido em uma população assintomática de 317 indivíduos sem fatores de risco cardiovasculares. Se por um lado obtivemos uma amostra homogênea é importante ressaltar que para tal foi aplicado um rigoroso critério de seleção o que pode por outro lado ter limitado o tamanho e características da amostra de participantes. Não foi possível também realizar análises ultrassônicas em outros sistemas arteriais susceptíveis à aterosclerose, fato que poderia agregar informações ao presente estudo.

Sugerimos que a Lp(a) pode estar envolvida em vias aterogênicas diretamente na parede arterial e/ou associada a marcadores de risco pro-aterogênicos. Como cerca de um terço da população apresenta valores acima do recomendado, destacamos a importância, como indicado na literatura especializada, da determinação de sua concentração como fator de risco pelo menos uma vez com fins de diagnóstico e tratamento para a prevenção de doenças cardiovasculares e suas complicações clínicas.

Ressaltamos que estudos subsequentes com maior número de voluntários devam ser desenvolvidos pois poderão avaliar a força das interações estatísticas observadas neste trabalho e avançar nos mecanismos pelos quais a Lp(a) influencia o processo aterosclerótico em indivíduos assintomáticos e sem fatores de risco cardiovascular.

## 7.0 REFERÊNCIAS

1. Massaroli LC, Santos LC, Carvalho GG, Carneiro SAJF, Rezende LF de. Qualidade de vida e o imc alto como fator de risco para doenças cardiovasculares: revisão sistemática. Rev Univ Val do Rio Verde [Internet]. 2018 Feb 17 [cited 2019 Jun 27];16(1).
2. Nascimento BR, Brant LCC, Oliveira GMM de, Malachias MVB, Reis GMA, Teixeira RA, et al. Cardiovascular Disease Epidemiology in Portuguese-Speaking Countries: data from the Global Burden of Disease, 1990 to 2016. Arq Bras Cardiol [Internet]. 2018 [cited 2019 Jun 27];110(6):500–11.
3. Silveira EL, Cunha LM da, Pantoja MDS, Lima AVM, Cunha ANA da. Prevalência e distribuição de fatores de risco cardiovascular em portadores de doença arterial coronariana no Norte do Brasil. Rev da Fac Ciências Médicas Sorocaba [Internet]. 2018 Dec 3 [cited 2019 Jun 26];20(3):167–73.
4. Gomes RAF, Barros IML de, Ferreira M de NL, Costa LOBF. Aterosclerose de Carótidas em Mulheres na Pré e Pós-Menopausa com Antecedentes de Hipertensão na Gestação: Estudo de Caso-Controlle. Int J Cardiovasc Sci [Internet]. 2018 [cited 2019 Jun 26];31(4):359–66.
5. Cardiologia SB de. Cardi metro [Internet]. [cited 2020 Jan 23]. Disponível em: <http://www.cardiometro.com.br>.
6. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Projeções da População | IBGE [Internet]. Portal IBGE. 2018 [cited 2020 Oct 10].
7. Siqueira A de SE, Siqueira-Filho AG de, Land MGP. Analysis of the Economic Impact of Cardiovascular Diseases in the Last Five Years in Brazil. Arq Bras Cardiol [Internet]. 2017 [cited 2019 Jun 26].
8. Siqueira A de SE, De Siqueira-Filho AG, Land MGP. Análise do impacto econ mico das doenç as cardiovasculares nos últimos cinco anos no brasil. Arq Bras Cardiol. 2017 Jul 1;109(1):39–46.
9. Oliveira GGP de, Oliveira GFM de, Costa C da, Machado D, Silva J da, Nunes C. Estilo de vida como fator de prevenção da aterosclerose. Cad da Med - UNIFESO [Internet]. 2019 Apr 5 [cited 2019 Jun 26];2(2).
10. Alves M, da Silva E, Nascimento C, Pontes E, Souza M, Dantas C, et al. Efeito de uma Dieta Adequada no Tratamento de Doenç as Cardiovasculares. In: International Journal of Nutrology [Internet]. Thieme Revinter Publicações Ltda; 2018 [cited 2019 Jun 27]. p. Trab332.

11. Waldeyer C, Makarova N, Zeller T, Schnabel RB, Brunner FJ, Jørgensen T, et al. Lipoprotein(a) and the risk of cardiovascular disease in the European population: results from the BiomarCaRE consortium. *Eur Heart J* [Internet]. 2017 Aug 21;38(32):2490–8.
12. Matos LS de, Zafra VB, Elias RM, Nogueira PLB, Silva LM da. Gênese da aterosclerose em crianças e adolescentes. *Connect LINE - Rev eletrônica UNIVAG* [Internet]. 2016 Jun 10;(14):27–35.
13. Reis SC. Uma revisão bibliográfica sobre aterosclerose. *Rev Eletrônica Acervo Científico* [Internet]. 2019 Feb 4;3:e444.
14. Xepapadaki E, Zvintzou E, Kalogeropoulou C, Filou S, Kypreos KE. The Antioxidant Function of HDL in Atherosclerosis. *Angiology* [Internet]. 2020 Feb 11 [cited 2019 Jun 27];71(2):112–21.
15. Faludi A, Izar M, Saraiva J, Chacra A, Bianco H, Afiune Neto A, et al. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose - 2017. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2017;109(1).
16. Arnao V, Tuttolomondo A, Daidone M, Pinto A. Lipoproteins in Atherosclerosis Process. *Curr Med Chem* [Internet]. 2019 May 21 [cited 2019 Jun 27];26(9):1525–43.
17. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ray K, Borén J, Andreotti F, Watts GF, et al. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. *Eur Heart J* [Internet]. 2010 Dec;31(23):2844–53.
18. Dias R, Maranhão RC. Lipoproteína ( a ) e doença arterial coronária. 2002;13(3):86–7.
19. Instituto Brasileiro de Pesquisa e Ensino em Fisiologia do Exercício FA, Franz LBB, Busnello MB. Revista brasileira de obesidade, nutrição e emagrecimento. *RBONE - Rev Bras Obesidade, Nutr e Emagrecimento* [Internet]. 2018 Aug 15 [cited 2019 Jun 27];12(72):456–65.
20. Montenegro Sá F, Ruivo C, Graça Santos L, Antunes A, Campos Soares F, Baptista J, et al. Progressão ultrarrápida de doença coronária ou placa instável não detetada? *Rev Port Cardiol* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2019 Jun 28];37(3):259–64.
21. Guedes R, Melo T, Lima A, Guimarães A, Moreira N GP. Análise do perfil lipídico e dos fatores de risco associados a doenças cardiovasculares em acadêmicos da área da saúde de Juiz de Fora. *HU Rev Juiz Fora*. 2016;42:159–64.
22. Selbac MT et al. Mudanças comportamentais e fisiológicas determinadas pelo ciclo biológico feminino – climatério à menopausa. *Rev Interdiscip Psicol e promoção da saúde* [Internet]. 2018;51.
23. Guedes RF, Melo TE, Lima AP, Guimarães ALA, Moreira NB., Garcia PG. Análise do

- perfil lipídico e dos fatores de risco associados a doenças cardiovasculares em acadêmicos da área da saúde de Juiz de Fora. *HU Rev* [Internet]. 2016 Sep 20 [cited 2019 Jun 28];42(2):159–64.
24. Moreno PPD, Ferraz MLF, Soares MH, Antunes Teixeira VDP, Helmo FR, Corrêa RRM. Correlação entre cardiopatias hipertensivas e aterosclerose na artéria aorta. *Rev Eletrônica Enferm* [Internet]. 2017 Dec 31 [cited 2019 Jun 28];19.
  25. Bomfim E dos S, Oliveira BG de, Calazans MIP, Pinto IS. Fatores de riscos associados à aterosclerose em pacientes portadores de hipertensão e diabetes. *Saúde e Desenvolv* [Internet]. 2016 Dec 27 [cited 2019 Jun 28];6(4).
  26. Amarante RDM, Castro R, Lage AV, Cisternas JR. Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. *Arq Médicos dos Hosp e da Fac Ciências Médicas da St Casa São Paulo* [Internet]. 2018 Aug 10 [cited 2019 Jun 28];52(3):87–93.
  27. Justi A, Tatsch P, Siqueira LO. Ferritina: biomarcador de doenças cardiovasculares em pacientes diabéticos. *ABCS Heal Sci* [Internet]. 2019 Apr 30 [cited 2019 Jun 28];44(1).
  28. Htay T, Soe K, Lopez-Perez A, Doan AHA, Romagosa MA, Aung KK. Mortality and Cardiovascular Disease in Type 1 and Type 2 Diabetes [Internet]. Vol. 21, *Current Cardiology Reports*. Current Medicine Group LLC 1; 2019 [cited 2020 Nov 9]. p. 1–7.
  29. World Health Organisation. Global report on diabetes who library Cataloguing-in-Publication Data Global report on diabetes [Internet]. 2016.
  30. Hess S, Alvarenga A, Medeiros C, Oliveira F, Barbosa T, Trevisan O. Distribuição espacial da mortalidade por doenças do aparelho respiratório no Brasil. *Eng Ambient Pesqui e Tecnol*. 2009 Aug 14;6(3).
  31. Low Wang CC, Hess CN, Hiatt WR, Goldfine AB. Clinical Update: Cardiovascular Disease in Diabetes Mellitus. *Circulation* [Internet]. 2016 Jun 14 [cited 2019 Jun 28];133(24):2459–502.
  32. Tran V, De Silva TM, Sobey CG, Lim K, Drummond GR, Vinh A, et al. The Vascular Consequences of Metabolic Syndrome: Rodent Models, Endothelial Dysfunction, and Current Therapies [Internet]. Vol. 11, *Frontiers in Pharmacology*. Frontiers Media S.A.; 2020 [cited 2020 Sep 24].
  33. Simmons RK, Alberti KGMM, Gale EAM, Colagiuri S, Tuomilehto J, Qiao Q, et al. The metabolic syndrome: Useful concept or clinical tool? Report of a WHO expert consultation [Internet]. Vol. 53, *Diabetologia*. Springer; 2010 [cited 2021 Jan 7]. p. 600–5.

34. Pires Brandão A, Brandão AA, Da A, Nogueira R, Suplicy H, Guimarães JI, et al. I Diretriz brasileira de diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica. [cited 2019 Jun 28].
35. Timóteo AT, Mota Carmo M, Soares C, Cruz Ferreira R. Is metabolic syndrome a prognostic marker in patients at high cardiovascular risk? A long-term cohort study. *Rev Port Cardiol* [Internet]. 2019 May 1 [cited 2019 Jun 28];38(5):325–32.
36. Engin A. The Definition and Prevalence of Obesity and Metabolic Syndrome. In: *Obesity and Lipotoxicity* [Internet]. 2017. p. 1–17.
37. Jaacks LM, Vandevijvere S, Pan A, McGowan CJ, Wallace C, Imamura F, et al. The obesity transition: stages of the global epidemic [Internet]. Vol. 7, *The Lancet Diabetes and Endocrinology*. Lancet Publishing Group; 2019 [cited 2020 Sep 11]. p. 231–40.
38. Elagizi A, Kachur S, Lavie CJ, Carbone S, Pandey A, Ortega FB, et al. An Overview and Update on Obesity and the Obesity Paradox in Cardiovascular Diseases. *Prog Cardiovasc Dis* [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2020 Sep 24];61(2):142–50.
39. Conde WL, Slater Villar B, Silva JC, Mazzeti CM da S. O IMC elevado no início da vida adulta é fator de risco para incidência precoce de doenças crônicas não transmissíveis?: 2. adultos Brasil (PNS-2013). Resumos [Internet]. 2017 [cited 2019 Jun 28].
40. Sherling DH, Perumareddi P, Hennekens CH. Metabolic Syndrome: Clinical and Policy Implications of the New Silent Killer [Internet]. Vol. 22, *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. SAGE Publications Ltd; 2017 [cited 2020 Sep 24]. p. 365–7.
41. Cochain C, Zerneck A. Macrophages in vascular inflammation and atherosclerosis [Internet]. Vol. 469, *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*. Springer Berlin Heidelberg; 2017 [cited 2019 Jun 27]. p. 485–99.
42. Menti E, Zaffari D, Galarraga T, Lessa JR da C e, Pontin B, Pellanda LC, et al. Early Markers of Atherosclerotic Disease in Individuals with Excess Weight and Dyslipidemia. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2016 [cited 2019 Jun 28].
43. Quintão ECR, Nakandakare ER, Passarelli M. Lípidos do metabolismo à Aterosclerose. *Sarvier 1ª*. São Paulo; 2011. 664 p.
44. Jomard A, Osto E. Metabolismus und Funktion der Lipoproteine hoher Dichte (HDL). *Praxis (Bern 1994)* [Internet]. 2019 May 28 [cited 2019 Jul 2];108(7):477–86.
45. Levitov AB, Dallas AP, Slonim AD. *Bioquímica Ilustrada de Harper (Lange) - 29ed* [Internet]. 30th ed. AMG, editor. 2013 [cited 2019 Jul 2]. 826 p.
46. Vendrame F 1988-. *Avaliação do papel das lipoproteínas nas doenças falciformes :*

- Evaluation of the role of lipoproteins in sickle cell disease. 2018 [cited 2019 Jun 28].
47. Generoso G, Janovsky CCPS, Bittencourt MS. Triglycerides and triglyceride-rich lipoproteins in the development and progression of atherosclerosis [Internet]. Vol. 26, Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity. 2019 [cited 2019 Jul 11]. p. 109–16.
  48. Konstantinov IE, Mejevoi N, Anichkov NM. Nikolai N. Anichkov and his theory of atherosclerosis [Internet]. Vol. 33, Texas Heart Institute Journal. 2006 [cited 2019 Jun 28]. p. 417–23.
  49. Alves AC, Sequeira S, Cardoso ML, Moldovan O, Espírito Santo R, Oliveira R, et al. Colesterol Total, nem oito(enta) nem (duzentos e) oitenta: Parte 2 – Hipolipidemias primárias – alterações do metabolismo das lipoproteínas. Artig breves [Internet]. 2019 [cited 2019 Jun 28];55–60.
  50. Feingold KR, Grunfeld C. Utility of Advanced Lipoprotein Testing in Clinical Practice [Internet]. Endotext. 2000 [cited 2019 Jul 11].
  51. Viney NJ, Yeang C, Yang X, Xia S, Witztum JL, Tsimikas S. Relationship between “LDL-C”, estimated true LDL-C, apolipoprotein B-100, and PCSK9 levels following lipoprotein(a) lowering with an antisense oligonucleotide. J Clin Lipidol [Internet]. 2018 May [cited 2019 Sep 11];12(3):702–10.
  52. Kontush A, Chapman MJ. High-density lipoproteins Structure, Metabolism, Function, and Therapeutics. 2012.
  53. Leança CC. O metabolismo de lipoproteínas e a sensibilidade à insulina são distintamente modulados em indivíduos saudáveis com concentração alta ou baixa de HDL-colesterol. Tese doutorado – Fac Med da Univ São Paulo Programa Endocrinol [Internet]. 2012 May 2.
  54. Trajkovska KT. High-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport: strategies for raising HDL cholesterol. Anatol J Cardiol [Internet]. 2017 Aug;18(2):149–54.
  55. Riggs KA, Rohatgi A. HDL and Reverse Cholesterol Transport Biomarkers [Internet]. Vol. 15, Methodist DeBakey cardiovascular journal. Methodist DeBakey Heart & Vascular Center; 2019 [cited 2019 Jul 2]. p. 39–46.
  56. Ouimet M, Barrett TJ, Fisher EA. HDL and Reverse Cholesterol Transport. Circ Res [Internet]. 2019 May 10 [cited 2019 Jul 2];124(10):1505–18.
  57. Berg K. A new serum type system in man-the lp system. Acta Pathol Microbiol Scand [Internet]. 1963 Aug 18;59(3):369–82.

58. Reyes-Soffer G, Ginsberg HN, Ramakrishnan R. The metabolism of lipoprotein (a): An ever-evolving story. *J Lipid Res* [Internet]. 2017 Sep [cited 2020 Jan 24];58(9):1756–64.
59. Schmidt K, Noureen A, Kronenberg F, Utermann G. Structure, function, and genetics of lipoprotein (a) [Internet]. Vol. 57, *Journal of Lipid Research*. American Society for Biochemistry and Molecular Biology; 2016 [cited 2019 Jun 14]. p. 1339–59.
60. Rawther T, Tabet F. Biology, pathophysiology and current therapies that affect lipoprotein (a) levels. *J Mol Cell Cardiol* [Internet]. 2019 Jun;131(April):1–11.
61. Jawi MM, Frohlich J, Chan SY. Lipoprotein(a) the Insurgent: A New Insight into the Structure, Function, Metabolism, Pathogenicity, and Medications Affecting Lipoprotein(a) Molecule. *J Lipids* [Internet]. 2020 Feb 1;2020:1–26.
62. McCormick SPA, Schneider WJ. Lipoprotein(a) catabolism: a case of multiple receptors [Internet]. Vol. 51, *Pathology*. Elsevier; 2019 [cited 2019 Aug 5]. p. 155–64.
63. Longstaff C, Kolev K. Basic mechanisms and regulation of fibrinolysis [Internet]. Vol. 13, *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. Blackwell Publishing Ltd; 2015 [cited 2020 Nov 12]. p. S98–105.
64. Tsimikas S. A Test in Context: Lipoprotein(a). *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2017 Feb 14 [cited 2019 May 24];69(6):692–711.
65. U. Julius, S. Tselmin, U. Schatz, S. Fischer SRB. Lipoproteína (a) - um desafio interdisciplinar. *Clin Res Cardiol Suppl* [Internet]. 2019.
66. Romagnuolo R, Scipione CA, Marcovina SM, Gemin M, Seidah NG, Boffa MB, et al. Roles of the low density lipoprotein receptor and related receptors in inhibition of lipoprotein(a) internalization by proprotein convertase subtilisin/kexin type 9. *PLoS One*. 2017 Jul 1;12(7).
67. Ma L, Chan DC, Ooi EMM, Barrett PHR, Watts GF. Fractional turnover of apolipoprotein(a) and apolipoprotein B-100 within plasma lipoprotein(a) particles in statin-treated patients with elevated and normal Lp(a) concentration. *Metabolism* [Internet]. 2019 Jul [cited 2019 Sep 11];96:8–11.
68. Rawther T, Tabet F. Biology, pathophysiology and current therapies that affect lipoprotein (a) levels. *J Mol Cell Cardiol* [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2019 Aug 5];131:1–11.
69. Varvel S, McConnell JP, Tsimikas S. Prevalence of Elevated Lp(a) Mass Levels and Patient Thresholds in 532 359 Patients in the United States. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2016 Nov [cited 2019 Aug 5];36(11):2239–45.

70. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J* [Internet]. 2016 Oct 14 [cited 2020 Aug 14];37(39):2999–3058.
71. Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, Beam C, Birtcher KK, Blumenthal RS, et al. 2018. Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines [Internet]. Vol. 139, *Circulation*. Lippincott Williams and Wilkins; 2019 [cited 2020 Nov 9]. p. E1082–143.
72. Enkhmaa B, Anuurad E, Berglund L. Lipoprotein (a): impact by ethnicity and environmental and medical conditions. *J Lipid Res* [Internet]. 2016 Jul 1 [cited 2019 Oct 30];57(7):1111–25.
73. Schmidt K, Noreen A, Kronenberg F, Utermann G. Structure, function, and genetics of lipoprotein (a). *J Lipid Res* [Internet]. 2016 Aug;57(8):1339–59.
74. Enkhmaa B, Anuurad E, Berglund L. Lipoprotein (a): impact by ethnicity and environmental and medical conditions. *J Lipid Res* [Internet]. 2016 Jul 1;57(7):1111–25.
75. Nago N, Kayaba K, Hiraoka J, Matsuo H, Goto T, Kario K, et al. Lipoprotein(a) levels in the Japanese population: Influence of age and sex, and relation to atherosclerotic risk factors: The Jichi Medical School Cohort Study. *Am J Epidemiol* [Internet]. 1995 May 1 [cited 2020 Mar 6];141(9):815–21.
76. Virani SS, Brautbar A, Davis BC, Nambi V, Hoogeveen RC, Sharrett AR, et al. Associations between lipoprotein(a) levels and cardiovascular outcomes in black and white subjects: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* [Internet]. 2012 Jan 17 [cited 2020 Feb 28];125(2):241–9.
77. Kamstrup PR, Benn M, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Extreme lipoprotein(a) levels and risk of myocardial infarction in the general population: The Copenhagen City Heart Study. *Circulation* [Internet]. 2008 Jan 15 [cited 2020 Nov 9];117(2):176–84.
78. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Atherosclerosis* [Internet]. 2016 Oct 1 [cited 2020 Nov 9];253:281–344.
79. Chan DC, Watts GF, Coll B, Wasserman SM, Marcovina SM, Barrett PHR. Lipoprotein(a) Particle Production as a Determinant of Plasma Lipoprotein(a) Concentration Across Varying Apolipoprotein(a) Isoform Sizes and Background Cholesterol-Lowering Therapy. *J Am Heart Assoc* [Internet]. 2019 Apr 2 [cited 2020 Mar 9];8(7).

80. Anderson TJ, Grégoire J, Pearson GJ, Barry AR, Couture P, Dawes M, et al. 2016 Canadian Cardiovascular Society Guidelines for the Management of Dyslipidemia for the Prevention of Cardiovascular Disease in the Adult. *Can J Cardiol* [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2019 May 21];32(11):1263–82.
81. Tipping RW, Ford CE, Simpson LM, Walldius G, Jungner I, Folsom AR, et al. Lipoprotein(a) concentration and the risk of coronary heart disease, stroke, and nonvascular mortality [Internet]. Vol. 302, *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2009 [cited 2019 Sep 11]. p. 412–23.
82. Tselepis AD. Oxidized phospholipids and lipoprotein-associated phospholipase A2 as important determinants of Lp(a) functionality and pathophysiological role [Internet]. Vol. 32, *Journal of Biomedical Research*. Nanjing Medical University; 2018 [cited 2020 Oct 16]. p. 13–22.
83. von Zychlinski A, Kleffmann T, Williams MJA, McCormick SP. Proteomics of Lipoprotein(a) identifies a protein complement associated with response to wounding. *J Proteomics* [Internet]. 2011 Nov 18 [cited 2020 Jul 22];74(12):2881–91.
84. Kral BG, Kalyani RR, Yanek LR, Vaidya D, Fishman EK, Becker DM, et al. Relation of Plasma Lipoprotein(a) to Subclinical Coronary Plaque Volumes, Three-Vessel and Left Main Coronary Disease, and Severe Coronary Stenoses in Apparently Healthy African-Americans With a Family History of Early-Onset Coronary Artery Disease. *Am J Cardiol* [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2019 May 21];118(5):656–61.
85. Saleheen D, Haycock PC, Zhao W, Rasheed A, Taleb A, Imran A, et al. Apolipoprotein(a) isoform size, lipoprotein(a) concentration, and coronary artery disease: a mendelian randomisation analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol* [Internet]. 2017 Jul 1 [cited 2020 Jan 30];5(7):524–33.
86. Sabbah N, Jaisson S, Garnotel R, Anglés-Cano E, Gillery P. Small size apolipoprotein(a) isoforms enhance inflammatory and proteolytic potential of collagen-primed monocytes. *Lipids Health Dis* [Internet]. 2019 Aug 31 [cited 2020 Sep 18];18(1).
87. Olejarz W, Łacheta D, Kubiak-Tomaszewska G. Matrix metalloproteinases as biomarkers of atherosclerotic plaque instability [Internet]. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2020 [cited 2020 Nov 10]. p. 3946.
88. Enkhmaa B, Anuurad E, Zhang W, Pearson TA, Berglund L. Association of Lp-PLA 2 activity with allele-specific Lp(a) levels in a bi-ethnic population. *Atherosclerosis* [Internet]. 2010 Aug [cited 2020 Oct 16];211(2):526–30.
89. Tsimikas S, Gordts PLSM, Nora C, Yeang C, Witztum JL. Statin therapy increases

- lipoprotein(a) levels. *Eur Heart J* [Internet]. 2020 Jun 21;41(24):2275–84.
90. Roelke LH, Rodrigues SL, Lotufo PA, Mill JG. Correlation Between the Intima-Media Thickness of the Proximal and Distal Common Carotids. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2013 [cited 2020 Oct 13];101(3):211–6.
  91. Freire CMV, Alcantara ML de, Santos SN dos, Amaral SI do, Veloso O, Porto CLL, et al. Recomendação para a Quantificação pelo Ultrassom da Doença Aterosclerótica das Artérias Carótidas e Vertebrais: Grupo de Trabalho do Departamento de Imagem Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia – DIC - SBC. *Arq Bras Cardiol - Imagem Cardiovasc* [Internet]. 2015;28:1–64.
  92. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER, et al. Use of Carotid Ultrasound to Identify Subclinical Vascular Disease and Evaluate Cardiovascular Disease Risk: A Consensus Statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force Endorsed by the Society for Vascular [Internet]. Vol. 21, *Journal of the American Society of Echocardiography*. Mosby; 2008 [cited 2019 Jun 27]. p. 93–111.
  93. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER, et al. Use of Carotid Ultrasound to Identify Subclinical Vascular Disease and Evaluate Cardiovascular Disease Risk: A Consensus Statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force Endorsed by the Society for Vascular. *J Am Soc Echocardiogr* [Internet]. 2008 Feb;21(2):93–111.
  94. Mortimer R, Machiappan S, Howlett DC. Carotid artery stenosis screening: Where are we now? [Internet]. Vol. 91, *British Journal of Radiology*. British Institute of Radiology; 2018 [cited 2020 Sep 25].
  95. Bauer M, Caviezel S, Teynor A, Erbel R, Mahabadi AA, Schmidt-Trucksäss A. Carotid intima-media thickness as a biomarker of subclinical atherosclerosis [Internet]. Vol. 142, *Swiss Medical Weekly*. EMH Media; 2012 [cited 2020 Oct 12].
  96. Tschiderer L, Klingenschmid G, Seekircher L, Willeit P. Carotid intima-media thickness predicts carotid plaque development: Meta-analysis of seven studies involving 9341 participants. *Eur J Clin Invest* [Internet]. 2020 Apr 29 [cited 2020 Mar 13];50(4):e13217.
  97. Sun P, Yang Y, Cheng G, Fan F, Qi L, Gao L, et al. Noninvasive central systolic blood pressure, not peripheral systolic blood pressure, independently predicts the progression of carotid intima-media thickness in a Chinese community-based population. *Hypertens Res* [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2020 Oct 13];42(3):392–9.
  98. Sitrângulo Junior CJ, da Silva ES. Carotid atherosclerotic disease [Internet]. Vol. 17,

- Jornal Vascular Brasileiro. Sociedade Brasileira de Angiologia e Cirurgia Vascular; 2018 [cited 2020 Sep 25]. p. 179–83.
99. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER, et al. Use of Carotid Ultrasound to Identify Subclinical Vascular Disease and Evaluate Cardiovascular Disease Risk: A Consensus Statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force Endorsed by the Society for Vascular. *J Am Soc Echocardiogr* [Internet]. 2008 Feb 1 [cited 2020 Oct 15];21(2):93–111.
  100. Santos-Neto PJ, Sena-Santos EH, Meireles DP, Santos IS, Bensenor IM, Lotufo PA. Reproducibility of carotid ultrasound measurements in the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil) at baseline. *Brazilian J Med Biol Res* [Internet]. 2019;52(8).
  101. Tomas L, Edsfeldt A, Mollet IG, Matic LP, Prehn C, Adamski J, et al. Altered metabolism distinguishes high-risk from stable carotid atherosclerotic plaques. *Eur Heart J* [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2020 Nov 11];39(24):2301–10.
  102. Saba L, Saam T, Jäger HR, Yuan C, Hatsukami TS, Saloner D, et al. Imaging biomarkers of vulnerable carotid plaques for stroke risk prediction and their potential clinical implications [Internet]. Vol. 18, *The Lancet Neurology*. Elsevier; 2019 [cited 2019 May 27]. p. 559–72.
  103. Song P, Fang Z, Wang H, Cai Y, Rahimi K, Zhu Y, et al. Global and regional prevalence, burden, and risk factors for carotid atherosclerosis: a systematic review, meta-analysis, and modelling study. *Lancet Glob Heal* [Internet]. 2020 May [cited 2020 Jul 23];8(5):e721–9.
  104. Nasr N, Ruidavets JB, Farghali A, Guidolin B, Perret B, Larrue V. Lipoprotein (a) and Carotid Atherosclerosis in Young Patients With Stroke. *Stroke* [Internet]. 2011 Dec;42(12):3616–8.
  105. Bea AM, Mateo-Gallego R, Jarauta E, Villa-Pobo R, Calmarza P, Lamiquiz-Moneo I, et al. La lipoproteína(a) se asocia a la presencia de arteriosclerosis en pacientes con hipercolesterolemia primaria. *Clínica e Investig en Arterioscler* [Internet]. 2014 Jul 1 [cited 2019 May 21];26(4):176–83.
  106. Hippe DS, Phan BAP, Sun J, Isquith DA, O'Brien KD, Crouse JR, et al. Lp(a) (Lipoprotein(a)) Levels Predict Progression of Carotid Atherosclerosis in Subjects With Atherosclerotic Cardiovascular Disease on Intensive Lipid Therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2018 Mar;38(3):673–8.
  107. Mellwig KP, Vogt A. Lipoprotein(a). *Clin Res Cardiol Suppl* [Internet]. 2019 Apr 3

- [cited 2020 Aug 11];14(S1):1–4.
108. Vlad C, Burlacu A, Florea L, Artene B, Badarau S, Covic A, et al. A comprehensive review on apolipoproteins as nontraditional cardiovascular risk factors in end-stage renal disease: current evidence and perspectives. *Int Urol Nephrol* [Internet]. 2019 Jul 22 [cited 2019 Jul 11];51(7):1173–89.
  109. Huffman MD, Kandula NR, Baldrige AS, Tsai MY, Prabhakaran D, Kanaya AM. Evaluating the Potential Association Between Lipoprotein(a) and Atherosclerosis (from the Mediators of Atherosclerosis Among South Asians Living in America Cohort). *Am J Cardiol* [Internet]. 2019 Mar 15 [cited 2019 May 21];123(6):919–21.
  110. Bos S, Duvekot MHC, Touw-Blommesteijn AC, Verhoeven AJM, Mulder MT, Watts GF, et al. Lipoprotein (a) levels are not associated with carotid plaques and carotid intima media thickness in statin-treated patients with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* [Internet]. 2015 Sep 1 [cited 2019 May 21];242(1):226–9.
  111. Kivimäki M, Magnussen CG, Juonala M, Kähönen M, Kettunen J, Loo B-M, et al. Conventional and Mendelian randomization analyses suggest no association between lipoprotein(a) and early atherosclerosis: the Young Finns Study. *Int J Epidemiol* [Internet]. 2011 Apr;40(2):470–8.
  112. Boffa MB, Koschinsky ML. Oxidized phospholipids as a unifying theory for lipoprotein(a) and cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol* [Internet]. 2019 May 23 [cited 2020 Jul 23];16(5):305–18.
  113. Knoflach M, Kiechl S, Penz D, Zangerle A, Schmidauer C, Rossmann A, et al. Cardiovascular Risk Factors and Atherosclerosis in Young Women. *Stroke* [Internet]. 2009 Apr 1;40(4):1063–9.
  114. Schreiner PJ, Heiss G, Tyroler HA, Morrisett JD, Davis CE, Smith R. Race and Gender Differences in the Association of Lp(a) With Carotid Artery Wall Thickness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 1996 Mar [cited 2020 Aug 25];16(3):471–8.
  115. Calmarza P, Trejo J, Lapresta C, Lopez P. Relationship between lipoprotein(a) concentrations and intima-media thickness: a healthy population study. *Eur J Prev Cardiol* [Internet]. 2012 Dec 13;19(6):1290–5.
  116. Rundek T, Gardener H, Della-Morte D, Dong C, Cabral D, Tiozzo E, et al. The relationship between carotid intima-media thickness and carotid plaque in the Northern Manhattan Study. *Atherosclerosis* [Internet]. 2015 Aug 1 [cited 2020 Mar 13];241(2):364–70.
  117. Murakami E, Shionoya T, Komenoi S, Suzuki Y, Sakane F. Cloning and characterization

- of novel testis-Specific diacylglycerol kinase  $\eta$  splice variants 3 and 4. *PLoS One* [Internet]. 2016 [cited 2019 Jul 5];11(9).
118. Malachias M, Souza W, Plavnik F, Rodrigues C, Brandão A, Neves M, et al. 7<sup>a</sup> Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2016 [cited 2020 Mar 4];107(3).
  119. Kahn HS. The “lipid accumulation product” performs better than the body mass index for recognizing cardiovascular risk: A population-based comparison. *BMC Cardiovasc Disord* [Internet]. 2005 [cited 2019 Jul 5];5.
  120. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clin Chem* [Internet]. 1972 [cited 2019 Jun 14];18(6).
  121. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, et al. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest* [Internet]. 1995 Dec 1 [cited 2020 Mar 2];96(6):2882–91.
  122. Tzeng Y-C. The Role of Ultrasonography in the Assessment of Arterial Baroreflex Function. In: *Applied Aspects of Ultrasonography in Humans* [Internet]. InTech; 2012 [cited 2021 Jan 8].
  123. Lorenz MW, von Kegler S, Steinmetz H, Markus HS, Sitzer M. Carotid Intima-Media Thickening Indicates a Higher Vascular Risk Across a Wide Age Range. *Stroke* [Internet]. 2006 Jan;37(1):87–92.
  124. Roelke LH, Rodrigues SL, Lotufo PA, Mill JG. Correlation Between the Intima-Media Thickness of the Proximal and Distal Common Carotids. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2013.
  125. Naqvi TZ, Lee M-S. Carotid Intima-Media Thickness and Plaque in Cardiovascular Risk Assessment. *JACC Cardiovasc Imaging* [Internet]. 2014 Oct 1 [cited 2019 Jun 7];7(10):1025–38.
  126. Riches K, Porter KE. Lipoprotein(a): Cellular Effects and Molecular Mechanisms. *Cholesterol* [Internet]. 2012 Sep 6 [cited 2020 Feb 28];2012:1–10.
  127. Gambhir JK, Kaur H, Prabhu KM, Morrisett JD, Gambhir DS. Association between lipoprotein(a) levels, apo(a) isoforms and family history of premature CAD in young Asian Indians. *Clin Biochem* [Internet]. 2008 May 1 [cited 2020 Feb 27];41(7–8):453–8.
  128. Kostner KM, Kostner GM. Lipoprotein (a): a historical appraisal. *J Lipid Res* [Internet].

2017 Jan 1 [cited 2019 May 21];58(1):1–14.

## 8.0 ANEXOS

### 8.1 Parecer do comitê de ética projeto temático FAPESP



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

[www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html](http://www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html)

CEP, 18/07/11  
(Grupo III)

2ª VIA

**PARECER PROJETO:** N° 120/2007 (Este n° deve ser citado nas correspondências referente a este projeto)  
**CAAE:** 0087.0.146.000-07

#### I-IDENTIFICAÇÃO:

**PROJETO:** “**RELAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE HDL-COLESTEROL COM O METABOLISMO DE COLESTEROL EM MONÓCITOS E NO PLASMA HUMANO**”  
**PESQUISADOR RESPONSÁVEL:** Eliana Cotta de Faria  
**INSTITUIÇÃO:** HC/UNICAMP  
**APRESENTAÇÃO AO CEP:** 06/03/2007  
**APRESENTAR RELATÓRIO EM:** 27/03/08 (O formulário encontra-se no *site* acima)

#### II - OBJETIVOS

Avaliar a mútua interferência da concentração da HDL e suas frações sobre o metabolismo do colesterol corpóreo via procedimentos *in vivo* e *in vitro* e relacionar os parâmetros metabólicos estudados à medida da espessura da camada íntima-média de carótides.

#### III - SUMÁRIO

Serão medidos os parâmetros que regulam metabolismo do colesterol em linfo-monócitos frescos do sangue e os esteróides plasmáticos marcadores de síntese (latotesrol/desmoterol) e de absorção intestinal, que serão relacionados com o grau de arterosclerose medido por ultrassonografia de carótidas por eco-doppler.

#### IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

Estudo bastante interessante, tem orçamento, cronograma e está bem dimensionado. Foi informado o número de sujeitos e a forma de recrutamento. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi readequado, estando de acordo com as normas do CNS/MS.

#### V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa supracitada.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP  
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126  
Caixa Postal 6111  
13084-971 Campinas - SP

FONE (019) 3521-8936  
FAX (019) 3521-7187  
cep@fcm.unicamp.br



**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

[www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html](http://www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html)

## VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

## VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na III Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 27 de março de 2007.

**Prof. Dr. Carlos Eduardo Steiner**  
PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
FCM / UNICAMP



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

<http://www.fcm.unicamp.br/fcm/pesquisa/comite-de-etica-em-pesquisa>

CEP, 28/05/13.  
(PARECER CEP: N° 120/2007)

## PARECER

### I - IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: "RELAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE HDL-COLESTEROL COM O METABOLISMO DE COLESTEROL EM MONÓCITOS E NO PLASMA HUMANO".

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Eliana Cotta de Faria

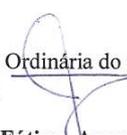
### II – PARECER DO CEP.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP tomou ciência e aprova o Regulamento do Biorrepositório de acordo com as diretrizes da Resolução CNS/MS 441/11 de 12/05/11, que regulamenta o armazenamento e utilização de material biológico humano no âmbito de projetos de pesquisa, referente ao protocolo de pesquisa supracitado.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

### III – DATA DA REUNIÃO.

Homologado na V Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 28 de maio de 2013.

  
**Prof. Dra. Fátima Aparecida Böttcher Luiz**  
COORDENADORA do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
FCM / UNICAMP

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP  
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126  
Caixa Postal 6111  
13083-887 Campinas – SP

FONE (019) 3521-8936  
FAX (019) 3521-7187  
cep@fcm.unicamp.br

## 8.2 Autorização da Prefeitura de Campinas



PREFEITURA MUNICIPAL DE CAMPINAS  
Secretaria Municipal de Saúde



### AUTORIZAÇÃO

Autorizo a realização da Pesquisa, intitulada "RELAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE HDL-COLESTEROL COM O METABOLISMO DE COLESTEROL EM MONÓCITOS E NO PLASMA HUMANO", já aprovada no Comitê de Ética da Universidade Estadual de Campinas e que conta com apoio da FAPESP.

Declaro estar ciente que a pesquisa será desenvolvida por pesquisadores do Departamento de Patologia Clínica da UNICAMP, coordenados pela Professora Doutora Eliana Cotta de Faria, junto a usuários do Sistema Único de Saúde, a partir da avaliação mensal dos resultados dos perfis lipídicos da população atendida nos serviços da Secretaria Municipal de Saúde, tomando como referência os exames realizados no Laboratório Municipal e que a coordenação do mesmo está de acordo com a parceria para a realização da pesquisa.

Campinas, 23 de julho de 2008

Dr. JOSÉ FRANCISCO KERR SARAIVA  
Secretário Municipal de Saúde.

### 8.3 Parecer consubstanciado pelo comitê de ética e pesquisa da UNICAMP



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** RELAÇÃO ENTRE A LIPOPROTEÍNA (a) E A ATEROSCLEROSE CAROTÍDEA SUBCLÍNICA EM INDIVÍDUOS ASSINTOMÁTICOS

**Pesquisador:** Victor Franca

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 20010419.1.0000.5404

**Instituição Proponente:** Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.603.864

##### Apresentação do Projeto:

As informações contidas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram obtidas dos documentos apresentados para apreciação ética e das informações inseridas pelo Pesquisador Responsável do estudo na Plataforma Brasil.

As doenças cardiovasculares (DCV) são as principais causas de óbito no Brasil e no mundo, fazendo parte das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), mais especificamente no grupo de doenças do aparelho circulatório. Segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia estima-se que ocorreram 349.938 mortes no Brasil em 2016 em decorrência dessas doenças, correspondendo aproximadamente 29% de todas as mortes no país. Este grupo de doenças possui uma relação direta com fatores muito estudados nas últimas décadas e que tiveram grandes mudanças como o consumo de alimentos altamente calóricos e o sedentarismo. O impacto socioeconômico das DCNT é responsável pelas atividades laborais e pelo comprometimento da renda familiar gerando e mantendo um ciclo de gastos importante com a saúde pública. Dados recentes demonstram que a população brasileira está em uma mudança importante de faixa etária, com o aumento de idosos e da expectativa de vida. Com isso é estimada uma incidência maior dos casos de DCV com seus consequentes custos altos, chegando a 9,5 % do produto Interno Bruto nacional atualmente. As manifestações das doenças cardiovasculares muitas vezes têm como processo subjacente à aterosclerose, uma doença inflamatória crônica, progressiva e silenciosa. Estudos realizados em múmias com mais de quatro mil anos demonstraram através de análises tomográficas a presença

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
**Bairro:** Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887  
**UF:** SP **Município:** CAMPINAS  
**Telefone:** (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.603.864

de placas ateroscleróticas em artérias, relatando que essa doença acompanha a história natural da humanidade por um tempo bastante significativo. A aterosclerose atinge usualmente a parede de vasos arteriais de médio e grande calibre, onde ocorre um acúmulo de lípidos no espaço subendotelial. Alguns estudos apontam que o início da aterosclerose ocorre na infância, entretanto as manifestações clínicas tendem a ocorrer após a quarta década de vida. A gênese da aterosclerose envolve uma quantidade variável de fatores que culminam na agressão do endotélio vascular, favorecendo a retenção de lipoproteínas, especialmente a lipoproteína de baixa densidade (LDL), rica em colesterol éster. O acúmulo de LDL na camada íntima arterial leva às modificações químicas tanto da sua fração lipídica quanto proteica, tendo a oxidação um papel fundamental. A partícula de LDL oxidada (LDL<sub>ox</sub>) é reconhecida pelos macrófagos residentes, capazes de captá-las através de seus receptores do tipo scavenger. Após a fagocitose, o macrófago sobrecarregado com lípidos passa a produzir uma série de quimiocinas, citocinas e proteases, capazes de estimular o processo inflamatório local. Assim, inicia-se a migração de monócitos para a camada íntima onde se diferenciam em macrófagos, que irão capturar mais partículas de LDL<sub>ox</sub>. Estes macrófagos (conhecidos como células espumosas) apresentam grande atividade pró-inflamatória e amplificam o processo de migração e diferenciação no espaço subendotelial. A progressão desse processo estimula a proliferação das células musculares lisas da camada média para a íntima e a síntese de macromoléculas da matriz extracelular, como a elastina, colágeno e proteoglicanos, levando o processo fisiopatológico a uma fase mais complexa. A placa aterosclerótica estabelecida pode ser constituída por elementos celulares, núcleo lipídico e conteúdo necrótico, devido ao processo de apoptose dos macrófagos e células musculares lisas. As placas são categorizadas de duas formas, uma de forma estável onde são fibrosas e compostas por tecido sólido e com pouco conteúdo lipídico ou podem ser instáveis, com alta atividade inflamatória, capa fibrosa fina e grande conteúdo lipídico, o que as tornam mais propensas à ruptura. A ruptura da placa é a condição mais grave do processo de aterosclerose, pois permite a liberação do conteúdo altamente trombótico para a circulação dando início a aterotrombose, que culmina na restrição de oxigênio e nutrientes para os tecidos, levando a isquemia e ou gerando fragmentos que podem gerar embolia. De forma geral, são reconhecidos alguns fatores de risco que contribuem para o desenvolvimento da aterosclerose. Estes fatores de risco cardiovasculares são divididos entre não modificáveis, modificáveis e os não tradicionais. Fatores de risco não modificáveis são bem descritos na literatura, como por exemplo, a idade. Estima-se que a cada dez anos há uma chance de aumento de 2,5 vezes na mortalidade pela DCV; ainda, está estabelecido que o aumento da idade proporciona um aumento de desenvolvimento da doença

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
**Bairro:** Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887  
**UF:** SP **Município:** CAMPINAS  
**Telefone:** (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.603.864

aterosclerótica coronariana (DAC). O sexo também tem sua contribuição: a DAC tende a manifestar-se mais tardiamente em mulheres do que em homens. A etnia também pode corroborar com a DCV: estudos revelam que na presença de hipercolesterolemia, indivíduos brancos tem maior risco do que negros. Entre os fatores modificáveis destacam-se a presença de obesidade/sobrepeso, hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM), dislipidemias, sedentarismo e hábitos alimentares. A HAS é caracterizada pela pressão arterial permanentemente elevada e níveis pressóricos 140 e/ou 90 mmHg. É apontada como um dos principais fatores de risco para a DAC, e quando associada ao diabetes são responsáveis por 25% dos óbitos ocorridos em doenças coronarianas, e contribuem para o desenvolvimento da aterosclerose graças aos efeitos deletérios sobre o endotélio vascular. Alguns distúrbios no metabolismo como a resistência insulínica, pré-diabetes e diabetes mellitus estão envolvidos no desenvolvimento e progressão da doença aterosclerótica de forma significativa. Por exemplo, a resistência insulínica (que corresponde a um bloqueio na sinalização efetuada por este hormônio), a hiperinsulinemia e a hiperglicemia resultantes contribuem para o aumento no aporte de ácidos graxos livres, produção de AGEs (do inglês, advancedglycationend-product), ativação de proteína quinase C, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial. Juntos, estes fatores favorecem o processo de disfunção endotelial e inflamação sistêmica, permitindo a ativação do processo de aterosclerose com proliferação de células musculares lisas, células endoteliais e monócitos. Em situações onde as concentrações de LDL são elevadas o aumento do estresse oxidativo modifica esta partícula, permitindo o avanço da formação de estrias gordurosas e a progressão da aterosclerose. Como resultado, a principal causa de morte em diabéticos, aproximadamente 2/3, se deve à DAC, especialmente entre os mais jovens e com maior índice glicêmico. A síndrome metabólica é um problema de saúde pública, caracterizada pela presença de pelo menos três de cinco fatores de risco cardiovascular, a saber: a) obesidade central, observada pela circunferência de cintura (superior a 94cm para homens e 80cm para mulheres); b) hipertrigliceridemia (>150mg/dL); c) HDL-C baixo (inferior a 40mg/dL para homens e 50mg/dL para mulheres); d) HAS e e) glicose de jejum elevada (igual ou superior a 110mg/dL). Um recente estudo revelou que a síndrome metabólica é associada ao dobro de desfechos cardiovasculares e 1,5 vezes de aumento da mortalidade total com relação aos não portadores. Vários estudos têm avaliado os mecanismos envolvidos na elevação do risco cardiovascular na presença de síndrome metabólica. Entre os mais proeminentes, destaca-se a alteração funcional do tecido adiposo, que impacta no metabolismo corpóreo como um todo sendo um fator chave para o desenvolvimento dos processos metabólicos deletérios associados. A obesidade consiste em um distúrbio nutricional e metabólico, sendo

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
**Bairro:** Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887  
**UF:** SP **Município:** CAMPINAS  
**Telefone:** (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.603.864

considerada uma epidemia global frente à transição nutricional através dos séculos. A obesidade é definida pelo índice de massa corpórea (IMC); de acordo com este índice é possível identificar indivíduos com peso normal (IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m<sup>2</sup>), sobrepeso (IMC entre 25 e 29,9 kg/m<sup>2</sup>) e obesidade de grau I (IMC entre 30 e 34,9 kg/m<sup>2</sup>), grau II (IMC entre 35 e 39,9 kg/m<sup>2</sup>) e grau III (IMC maior que 40 kg/m<sup>2</sup>). As associações entre a presença da obesidade e manifestações cardiovasculares são numerosas, sendo esta condição um fator independente de risco às DCVs bem como para o desenvolvimento de HAS, síndrome metabólica, diabetes mellitus, infarto do miocárdio e fibrilação atrial. Os fatores não tradicionais principais são as citocinas pró-inflamatórias, proteína C reativa (PCR) e a interleucina-6 (IL-6). A IL-6 é uma citocina produzida principalmente pelo fígado sob a estimulação de citocinas pró-inflamatórias derivadas de adipócitos. Seu nível elevado está relacionado a prognóstico adverso, refletindo um estado inflamatório primário que provoca a instabilidade da placa aterosclerótica. Pacientes com angina instável e com níveis IL-6 sérica elevados demonstraram associação com maior mortalidade intra-hospitalar. A proteína C reativa (PCR) é uma proteína de fase aguda, utilizada na prática clínica como um biomarcador de inflamação sistêmica. É sintetizada pelos hepatócitos em resposta a citocinas inflamatórias. O desenvolvimento de métodos de alta sensibilidade (PCR ultrasensível) possibilitou sua aplicação clínica no contexto da aterosclerose, marcada por inflamação vascular sistêmica. Os níveis de PCR estão diretamente ligados aos fatores de riscos cardiovasculares, e inversamente proporcional aos níveis de HDL-C. As dislipidemias são proeminentes fatores de risco cardiovascular, sendo que o papel do colesterol plasmático na gênese da lesão foi sugerido em 1913 por Nikolai Anitschkow. Posteriormente, os conceitos foram refinados com a descoberta da prevalência da lipoproteína de baixa densidade (LDL), rica em colesterol, nas lesões e condições relacionadas. Alterações no metabolismo lipídico determinam as dislipidemias, que de acordo com a sua etiologia podem ser classificadas em primárias, como resultado de alterações genéticas, ou secundárias, quando desencadeadas por outras doenças, intervenções medicamentosas e/ou fatores ambientais. Por exemplo, o acúmulo de partículas de quilomícrons e/ou VLDL no plasma caracteriza a hipertrigliceridemia, um reconhecido preditor significativo de doenças cardiovasculares. Esta condição geralmente é exacerbada por fatores não genéticos, já que tanto no estado pós-prandial quanto no jejum o aumento da trigliceridemia é uma característica comum à síndrome metabólica, diabetes mellitus, obesidade e consumo exagerado de bebidas alcoólicas. Já o acúmulo de lipoproteínas ricas em colesterol como a LDL resulta em uma condição denominada hipercolesterolemia, que é condicionada pela quantidade de receptores para esta lipoproteína nos tecidos, principalmente no fígado. Atualmente as dislipidemias podem ser

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
**Bairro:** Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887  
**UF:** SP **Município:** CAMPINAS  
**Telefone:** (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.603.864

classificadas em hipercolesterolemia isolada, que é o aumento isolado do LDL-C (160mg/dL); hipertrigliceridemia isolada, onde ocorre o aumento do TG (TG 150mg/dL em jejum ou 175 mg/dL, se a amostra foi obtida sem jejum); hiperlipidemia mista, que por sua vez é aumento do LDL-C (160mg/dL) e de TG (TG 150mg/dL em jejum calórico ou 175 mg/dL, se a amostra foi obtida sem jejum calórico) e hipoalfalipoproteinemia, caracterizada pelos níveis diminuídos de HDL-C (homens < 40mg/dL e mulheres < 50mg/dL) isolado ou associado ao aumento do LDL-C ou TG. Em função das lipoproteínas plasmáticas terem papel relevante no desenvolvimento da doença aterosclerótica, faz-se necessário apresentar aspectos principais de seu metabolismo que conferem maior risco ou proteção a esta condição. As lipoproteínas são definidas como agregados macromoleculares compostos por lípidos e apolipoproteínas cuja função primordial é realizar o transporte dos lípidos (hidrofóbicos) no plasma. No geral, são classificadas em cinco tipos de acordo com a composição, densidade, tamanho e carga elétrica: quilomícron, lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), lipoproteína de densidade intermediária (IDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e lipoproteína de alta densidade (HDL). Os quilomícrons e a VLDL são lipoproteínas ricas em triglicérides enquanto a HDL e LDL são constituídas principalmente por colesterol (colesterilester). Quanto maior a proporção de lípidos, principalmente triglicérides, menos densas essas lipoproteínas são; o contrário também é válido em relação a proporção proteica. As apolipoproteínas são as estruturas mais importantes dessas partículas, pois são fixas em suas superfícies e desempenham diversas funções. A apolipoproteína A-I (apo A-I) é a principal proteína constituinte da HDL, possibilitando a retirada de colesterol das superfícies celulares entre outras funções consideradas antiaterogênicas. Já os quilomícrons apresentam a apo B-48 como principal apolipoproteína; ainda, a apo B-100 representa a principal fração proteica da VLDL, IDL e LDL. Apolipoproteínas menores como a apo C e apo E são essenciais para a interação das diferentes classes de lipoproteínas com enzimas hidrolíticas (como a lipoproteína lipase - LPL) e receptores celulares específicos. O metabolismo das lipoproteínas pode ser dividido em duas vias principais, a via intestinal e hepática. Na via intestinal os lípidos advindos da dieta são emulsificados pelos sais biliares e compartimentalizados em micelas, estruturas que possibilitam seu transporte para o citoplasma e retículo endoplasmático das células intestinais. Nos enterócitos os ácidos graxos são utilizados para a síntese de triglicérides; ainda, nos enterócitos os lípidos são esterificados por meio da atividade da enzima ACAT2 (AcilcolesterolAcilTransferase 2), presente no retículo endoplasmático. Somado a isso, a proteína de transferência microssomal (MTP) transfere triglicérides e fosfolípidos para o interior do retículo, promovendo a conjugação destes ao colesterol esterificado e apolipoproteínas nascentes (neste caso a apolipoproteína B-48,

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
**Bairro:** Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887  
**UF:** SP **Município:** CAMPINAS  
**Telefone:** (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.603.864

obrigatoriamente). Estas estruturas formadas são transportadas ao aparelho de Golgi na forma denominada quilomícrons. Os quilomícrons apresentam composição primordialmente lipídica, na forma de triglicérides, e são secretados e transportados via para o sistema linfático, alcançando a circulação através do ducto torácico. Nos capilares extra-hepáticos são convertidos a partículas remanescentes, entretanto ainda ricas em triglicérides, por meio da lipólise promovida pela atividade da lipoproteína lipase (LPL). Esta enzima se encontra na superfície das células endoteliais principalmente no tecido adiposo e muscular, sendo responsável pela produção de monoglicerídeos e diglicerídeos. Desta maneira a enzima viabiliza ou o armazenamento dos ácidos graxos livres no tecido adiposo ou a utilização no tecido muscular esquelético como fonte energética. Os quilomícrons continuarão a ser substrato da LPL na circulação na forma denominada quilomícrons remanescentes. Estes são removidos da circulação pelo fígado por meio dos receptores celulares B e E (ou receptores de LDL, LDLR), em um processo intermediado pelo enriquecimento das partículas remanescentes em apolipoproteína E (apo E); ainda, os remanescentes também podem ser captados pelo fígado via receptores E, proteína análoga ao receptor de LDL (LRP) e receptores tipo 2-macroglobulina. Nos hepatócitos, o aporte lipídico somado ao conteúdo endógeno e balanço corpóreo de colesterol permite a sinalização para a reorganização de uma nova lipoproteína, a VLDL dando início a via hepática. As partículas de VLDL produzidas variam em tamanho e composição e podem ser separadas em duas classes: a VLDL1, com maior conteúdo de triglicérides e a VLDL2, menor e mais densa. Sua formação ocorre em etapas distintas; na primeira, a apo B100 é lipídada no retículo endoplasmático com auxílio da MTP, formando as partículas menores de pré-VLDL. Na segunda etapa, estas partículas são conjugadas a uma grande quantidade de lípidos, formando as partículas maduras, enriquecidas principalmente em triglicérides. Portanto, a formação e secreção de VLDL é um processo complexo, cuja regulação envolve primariamente a produção do seu maior componente estrutural (apo B100), a disponibilidade de lípidos para a formação da monocamada externa e do núcleo lipídico (colesterol livre, fosfatidilcolina, triglicérides e colesterol esterificado) e a atividade da proteína MTP. A VLDL produzida no fígado é secretada na circulação periférica, onde as moléculas de triglicérides de sua constituição são substrato para a LPL, enzima primariamente estimulada pela presença de apolipoproteína CII (apo CII) e inibida pela apolipoproteína CIII (apo CIII). Os ácidos graxos advindos da lipólise de VLDL são redistribuídos para os tecidos, onde podem ser armazenados (no caso do tecido adiposo) ou utilizados (principalmente no músculo esquelético); ainda, as partículas de VLDL depletadas em triglicérides trocam apo CII e apo E com as partículas de HDL da circulação, sendo então formada a lipoproteína de densidade intermediária, IDL. As

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
**Bairro:** Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887  
**UF:** SP **Município:** CAMPINAS  
**Telefone:** (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.603.864

partículas de IDL também são substrato para a atividade da LPL e da lipase hepática (LH), formando a partícula de LDL. Entretanto, as partículas de IDL podem também ser removidas da circulação via receptores de LDL (LDLR). A LDL ou lipoproteína de baixa densidade representa a principal fonte de colesterol aos tecidos periféricos. Partículas de LDL têm meia vida relativamente longa (aproximadamente três dias), provavelmente devido à ausência de apolipoproteínas ativadoras de lipases em sua estrutura, bem como pela estabilidade promovida pelo maior conteúdo de colesterol esterificado. Aproximadamente 75% das partículas circulantes de LDL são removidas pelo fígado, onde são reconhecidas pelo LDLR. Após a endocitose da LDL, o receptor LDLR volta a membrana celular num processo de reciclagem. Os componentes da LDL serão degradados pelos lisossomos e enzimas específicas no interior da célula. A HDL compreende um conjunto altamente heterogêneo de partículas lipoproteicas que diferem entre si em densidade, tamanho, carga de superfície e composição lipídico-proteica. Sólidos estudos epidemiológicos demonstraram que o conteúdo de colesterol da partícula, ou HDL-C, é inversamente correlacionado ao risco de doença cardiovascular aterosclerótica; de fato, a HDL se distingue das lipoproteínas que contêm apo B pela sua capacidade de exercer um amplo espectro de atividades funcionais consideradas anti-aterogênicas, inclusive o transporte reverso de colesterol(12,38,39). As partículas de HDL compreendem o conjunto de lipoproteínas com tamanho variando entre 8 e 12nm e densidade entre 1,063 e 1,210g/mL. As subfrações conhecidas como HDL2 e HDL3 podem ser separadas por ordem decrescente de tamanho em HDL2b (diâmetro médio 10,6nm), HDL2a (9,2nm), HDL3a (8,4nm), HDL3b (8nm) e HDL3c (7,6nm). No geral as partículas de HDL são constituídas por 50% de apolipoproteínas, 20% de colesterol livre (CL) e de colesterol esterificado (CE), 15% de fosfolípidos e 5% de triglicerídeos (TG). Seu formato varia entre complexos discoidais e esféricos, compostos predominantemente de lípidos polares solubilizados por apolipoproteínas, em especial as apolipoproteínas A-I (apo A-I) e A-II (apo A-II). Adicionalmente, as partículas de HDL contêm outras proteínas não estruturais, que incluem enzimas e proteínas de fase aguda da inflamação. Deste modo, as partículas de HDL são altamente heterogêneas em relação as suas propriedades físico-químicas, em parte devido ao contínuo remodelamento intravascular promovido pela ação de vários fatores, entre eles proteínas estruturais da partícula, transportadores de membrana, enzimas, receptores e proteínas de transferência de lípidos. Por exemplo, a estrutura dinâmica da apo A-I permite à molécula adotar diferentes conformações (discoidal ou esférica) em função da quantidade de moléculas lipídicas associadas. Os mecanismos envolvidos na variação estrutural da apo A-I, e conseqüentemente no diâmetro da HDL, promovem movimentos específicos conduzidos pela interação proteína-fosfolípidos. Adicionalmente, o

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
**Bairro:** Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887  
**UF:** SP **Município:** CAMPINAS  
**Telefone:** (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.603.864

diâmetro das partículas formadas a partir da interação entre a apo A-I e o transportador celular ABCA1 (do inglês, ATP binding cassette transporter A1) é determinado pela estabilidade da hélice N-terminal e hidrofobicidade do domínio C-terminal da apo A-I. A composição química da partícula é determinante para as suas atividades biológicas. Quanto à composição em lipídeos, a HDL apresenta uma monocamada externa formada principalmente por fosfolípidos e colesterol não esterificado, enquanto o núcleo é composto de lipídeos neutros como colesterol esterificado e triglicérides. Os fosfolípidos são quantitativamente predominantes (20-30%). Junto aos fosfolípidos, esteróides como o colesterol não esterificado estão localizados na monocamada externa e regulam a sua fluidez. Outros esteróis estão presentes em menor proporção, como os oxisteróis. O colesterol esterificado presente no interior da partícula de HDL (14-18% do total lipídico) é formado em decorrência da atividade da LCAT (do inglês, lecithincholesterolacyltransferase), enquanto as moléculas de triglicérides são derivadas das lipoproteínas contendo apo B, como resultado da atividade da CETP (do inglês, cholesterylestertransferprotein). A síntese da HDL é realizada principalmente no fígado e no intestino por processos intravasculares cujo precursor é apo-AI livre de lipídeos ou pré- HDL pobre em lipídeos. A formação e remodelamento da partícula configuram uma de suas funções mais conhecidas e descritas, o efluxo de colesterol. Este processo representa a propriedade ateroprotetora da HDL com maior relevância clínica, constituindo a base para a associação entre as concentrações de HDL-C no plasma e o risco cardiovascular. O efluxo do colesterol é o passo inicial para o transporte reverso de colesterol, sendo de suma importância para a homeostase do metabolismo lipídico, atuando na prevenção de acúmulo nas células espumosas presentes no espaço subendotelial das artérias e conseqüentemente levando a doença aterosclerótica coronariana (DAC). As partículas de HDL podem ser removidas da circulação por "holoparticle HDL receptors" ou HDLR nos hepatócitos; as partículas de HDL contendo apo E também podem ser removidas da circulação por meio do LDLR hepático, em uma rota alternativa para a remoção de colesterol plasmático. A Lp (a) possui uma estrutura semelhante ao da LDL, porém com a presença da apolipoproteína (a) ligada covalentemente por uma ponte de dissulfeto à ApoB, possui uma estrutura esférica, cerca de 25nm de diâmetro, densidade entre 1,05 e 1,12 g/mL. Por razões ainda desconhecidas a apo (a) evoluiu a partir do gene do plasminogênio. O plasminogênio contém 5krigles que são estruturas tridimensionais de cadeias pesadas (KI a KV). Essa cadeia assemelha-se uma pró-enzima (plasminogênio) que é convertida na enzima fibrinolítica plasmina, porém, a Lp (a) não possui ação fibrinolítica. A Apo (a) não contém o KI a KIII, mas contém 10 subtipos de KIV e uma cópia de KV. O número de repetições do KIV é geneticamente determinado podendo

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
**Bairro:** Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887  
**UF:** SP **Município:** CAMPINAS  
**Telefone:** (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.603.864

chegar até 34 diferentes isoformas de apo (a). Estudos in vitro demonstraram que a síntese de apo (a) ocorre nos hepatócitos e a associação desta com a Apo B ocorre na superfície celular. Existem evidências que o receptor de Lp(a) não é fundamental na remoção dessa lipoproteína. A Lp(a) carrega todos os riscos aterogênicos da partícula de LDL, incluindo a propensão de oxidação após a entrada nas camadas íntima e média das artérias, ocasionando um processo inflamatório, recrutando macrófagos e esses transformando-se em células espumosas precursoras da aterosclerose. As concentrações plasmáticas na população em geral variam de 0,1 a 300 mg/dL. Segundo a diretriz de risco cardiovascular canadense níveis maiores que 30mg/dL estão associados a um aumento de risco cardiovascular. Populações com ascendência africana têm níveis mais elevados de Lp (a) seguida geralmente pelos sul-asiáticos, caucasianos, hispânicos e asiáticos do leste. Contudo, a Lp (a) elevada é considerada um fator de risco de doenças cardiovasculares independente em todos os grupos raciais estudados até o momento. Estilo de vida e condições ambientais não demonstram variação significativa. Os estudos até o presente momento não revelaram uma função fisiológica da Lp (a) no transporte ou na regulação do metabolismo lipídico. Portanto, permanece conceitualmente apenas como uma lipoproteína antifibrinolítica devido a homologia ao plasminogênio e pró-aterogênica em razão da semelhança com a partícula de LDL. A Lp (a) tem sido considerada como um risco independente para doenças cardiovasculares, por sua semelhança à LDL, podendo também se acumular nas camadas íntima e média das artérias levando a um processo inflamatório precursor da aterosclerose. Todavia, ainda esse assunto permanece discrepante na literatura devido à controvérsias evidenciadas em alguns estudos como demonstrou Huffman Mark e colaboradores em uma população de sul- asiáticos na qual os níveis de Lp (a) não se associaram à aterosclerose carotídea. Outros autores revelaram uma associação entre níveis elevados de Lp (a) e o espessamento e ou placas carotídeas sendo responsável pelo recrutamento de macrófagos e posteriormente transformados em células espumosas as quais são responsáveis pelo espessamento e presença de placa carotídea.

#### **Objetivo da Pesquisa:**

##### **Objetivo Primário:**

Avaliação das relações entre as concentrações de Lp(a) com a presença de placas ateroscleróticas carotídeas e a espessura da camada íntima e média das carótidas (cIMT) em indivíduos assintomáticos.

##### **Objetivo Secundário:**

a- Avaliar a Lp(a) com variáveis clínicas, como sexo, idade, etnia, pressão arterial, dados de antropometria (peso corporal, altura, circunferência de cintura, circunferência de quadril, produto

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
**Bairro:** Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887  
**UF:** SP **Município:** CAMPINAS  
**Telefone:** (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.603.864

de acúmulo lipídico) e índices de avaliação da rotina de atividade física (índice de esporte, de trabalho, de tempo livre e geral). b- Avaliar a Lp(a) com as seguintes variáveis bioquímicas: perfil lipídico (colesterol total, HDL-C, LDL-C, VLDL-C triglicérides, apoA-I, apoB100 e o tamanho da HDL) proteína C reativa (PCR), atividade de paraoxonase-1 (PON1), marcadores de função hepática (alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, glutamyl transferase e fosfatase alcalina), função renal (ureia, creatinina, ácido úrico) e tireoidiana (hormônio estimulante da tireoide e tiroxina livre).

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

##### **Riscos:**

Este protocolo de pesquisa não envolve riscos previsíveis aos indivíduos, uma vez que consiste em uma análise de dados (estudo retrospectivo). Estão garantidos nos protocolos da pesquisa em questão (banco de dados) a integridade dos participantes no que diz respeito à preservação de sua identidade, sigilo e confidencialidade dos resultados de seus exames.

##### **Benefícios:**

Os benefícios da pesquisa se traduzem em resultados com possível aplicabilidade nas políticas de avaliação de risco cardiovascular.

#### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa é de responsabilidade de Victor Franca, com a participação de Eliana Cotta de Faria e Vanessa Helena de Souza Zago. Trata-se de projeto de Mestrado.

O protocolo está bem escrito, detalhado e claro. A metodologia é adequada e factível. Será realizado um estudo retrospectivo a partir de dados de voluntários que participaram do Projeto Temático FAPESP nº2006/60585-9 "Relação da concentração de HDL-C com o metabolismo de colesterol em monócitos e no plasma humano" (aprovação CEP 120/2007, anexo I) entre os anos de 2008 e 2013 na cidade de Campinas - SP. A população será composta por 327 voluntários, com idade entre 19 e 75 anos, de ambos os sexos. Não foram caracterizados dados como orientação sexual, identidade de gênero e grupos sociais determinados por aspectos socioeconômicos, nem incluídos grupos vulneráveis. O processo de seleção de voluntários foi previamente descrito por Parra e colaboradores e envolveu o estabelecimento de um convênio com a Secretaria Municipal de Saúde de Campinas em 2008 com longa duração. Neste convênio ficou estabelecido o envio mensal do perfil lipídico (colesterol total, LDL-C, HDL-C e triglicérides) de todos os indivíduos que espontaneamente buscaram atendimento médico nos 64 postos de saúde deste município. A partir destes resultados foi feita a triagem inicial para inclusão de voluntários com idade entre 19 e 75 anos, com concentração plasmática de LDL-C e triglicérides inferiores ou

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
**Bairro:** Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887  
**UF:** SP **Município:** CAMPINAS  
**Telefone:** (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.603.864

iguais a 130mg/dL e 150mg/dL, respectivamente. Após a triagem inicial foi realizado contato telefônico e aplicado um questionário que permitiu o convite a mais 1500 voluntários para comparecer ao Hospital de Clínicas (HC) da UNICAMP para a avaliação clínica e laboratorial inicial, chamada visita 1. Desta forma, os voluntários que compõem a presente proposta correspondem a todos os que compareceram nesta fase. Os voluntários desta proposta compareceram ao HC/UNICAMP para realização de exame clínico completo para avaliação da saúde geral. A pressão arterial sistólica e diastólica (mmHg) foi aferida indiretamente através da artéria braquial mantendo iguais procedimentos de posição e tempo determinados. Todos os indivíduos responderam um questionário padronizado sobre uso de medicamentos, tabagismo, histórico familiar de DAC precoce e outras condições pré-existentes. A etnia foi auto referida e respondida conforme vontade e critério do próprio voluntário. Na admissão foi aferido o peso corporal (kg), altura (cm), circunferência de cintura (CC), e circunferência de quadril (CQ). A partir destas medidas foi calculado o índice de massa corpórea (IMC, kg/m<sup>2</sup>), a razão CC/CQ e CC/altura, todos considerados marcadores de adiposidade. Determinações laboratoriais: O sangue venoso periférico dos voluntários foi coletado na admissão após jejum de 12 horas para a separação de soro e plasma EDTA por centrifugação (4°C, 1000 g, 10 minutos). Parte do soro foi analisada imediatamente na Seção de Bioquímica Clínica e Fisiologia Clínica do Hospital de Clínicas/Unicamp onde foram determinados em sistema automatizado Modular®Analytics Evo (Roche Diagnostics, Burgess Hill, West Sussex, UK) utilizando reagentes Roche Diagnostics® (Mannheim, Germany) e parte do soro e do plasma EDTA foi armazenada à -80°C até as análises. A determinação da espessura média da camada íntima-média da artéria carótida (EIMc) foi realizada por um único radiologista do Serviço de Radiologia do Hospital de Clínicas / Unicamp. No procedimento, os sujeitos foram avaliados em decúbito dorsal, com a cabeça elevada em cerca de 20 graus e girados para aproximadamente 45 graus, utilizando um sistema transdutor linear de 6-9 MHz (ATL HDI 1500 e 3500 Ultrasound System, Advanced Technology Laboratories Ultrassom, Bothell USA). O protocolo consistiu em várias medidas longitudinais de segmentos das artérias carótidas comuns, direita e esquerda, na parede distal e a 1 cm da bifurcação. Os resultados correspondem à média aritmética das espessuras (em milímetros) das artérias carótidas direita e esquerda. O valor de referência do EIMc foi considerado menor que 0,9mm. Além disso, a presença de placas ateroscleróticas (PA) (ao longo do bulbo e paredes internas da carótida 1,5mm) foi relatada. Critério de Inclusão: Serão incluídos neste estudo voluntários que do Projeto Temático FAPESP n° 2006/60585-9, intitulado "Relação da concentração de HDL-colesterol com o metabolismo de colesterol em monócitos e no plasma humano", executado entre os anos de 2008 e 2013 após

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
**Bairro:** Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887  
**UF:** SP **Município:** CAMPINAS  
**Telefone:** (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.603.864

autorização do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências Médicas (parecer nº120/2007). Como critérios de inclusão serão utilizados a idade (entre 19 e 75 anos), não tabagistas e que não faziam uso de medicamentos reconhecidos por interferir no metabolismo lipídico. Critério de Exclusão: Serão excluídos os voluntários que reportaram ou tiveram exames laboratoriais que evidenciaram doenças metabólicas, renais, hepáticas ou tireoidianas, pois não caracterizam indivíduos assintomáticos.

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

Além do relatório de pesquisa, foi encaminhada a folha de rosto da CONEP assinada pelo pesquisador e complementada por autorização do Diretor Associado da FCM/UNICAMP. O pesquisador solicita a dispensa do TCLE com a seguinte justificativa: "Por ser um estudo retrospectivo de análise de dados, que não envolverá recrutamento nem atendimento a voluntários, será solicitada a dispensa do uso de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, uma vez que não há riscos previsíveis aos participantes. Estão garantidos nos protocolos da pesquisa em questão (composição do banco de dados) a integridade dos participantes no que diz respeito à preservação de sua identidade, sigilo e confidencialidade dos resultados de seus exames. Os dados que serão analisados nesta proposta foram obtidos entre durante a vigência do projeto temático FAPESP nº 2006/60585-9, intitulado "Relação da concentração de HDL-colesterol com o metabolismo de colesterol em monócitos e no plasma humano", executado entre os anos de 2008 e 2013 após autorização do Comitê de Ética em Pesquisa(CEP) da Faculdade de Ciências Médicas (parecer nº 120/2007).".

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

Aprovado, com dispensa do TCLE.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

- O participante da pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (quando aplicável).
- O participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (quando aplicável).
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
**Bairro:** Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887  
**UF:** SP **Município:** CAMPINAS  
**Telefone:** (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.603.864

realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.

- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas e aguardando a aprovação do CEP para continuidade da pesquisa. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.

- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

- Lembramos que segundo a Resolução 466/2012, item XI.2 letra e, “cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento”.

- O pesquisador deve manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

| Tipo Documento                 | Arquivo                                       | Postagem               | Autor         | Situação |
|--------------------------------|---|------------------------|---------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1407140.pdf | 15/08/2019<br>09:51:42 |               | Aceito   |
| Cronograma                     | cronograma.pdf                                | 15/08/2019<br>09:49:56 | Victor Franca | Aceito   |

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
**Bairro:** Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887  
**UF:** SP **Município:** CAMPINAS  
**Telefone:** (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.603.864

|   |                            |                        |               |        |
|---|----------------------------|------------------------|---------------|--------|
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador                 | Novo_projeto_Lpa140819.pdf | 15/08/2019<br>09:47:02 | Victor Franca | Aceito |
| Outros  | Parecer_CEP_FCM_2007.pdf   | 08/08/2019<br>11:35:13 | Victor Franca | Aceito |
| Outros  | AtestadoMatricula.pdf      | 08/08/2019<br>11:33:20 | Victor Franca | Aceito |
| Outros  | Cracha.pdf                 | 08/08/2019<br>11:32:24 | Victor Franca | Aceito |
| Outros  | VANESSA_C_RESUMIDO.pdf     | 08/08/2019<br>11:25:07 | Victor Franca | Aceito |
| Outros  | Eliana_C_Resumido.pdf      | 08/08/2019<br>11:24:07 | Victor Franca | Aceito |
| Outros  | 2017_Prefeitura.pdf        | 08/08/2019<br>11:21:55 | Victor Franca | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE.pdf                   | 08/08/2019<br>11:19:51 | Victor Franca | Aceito |
| Orçamento   | orcamento.pdf              | 08/08/2019<br>11:08:19 | Victor Franca | Aceito |
| Folha de Rosto  | folha_rosto.pdf            | 08/08/2019<br>11:05:24 | Victor Franca | Aceito |

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

CAMPINAS, 27 de Setembro de 2019

---

**Assinado por:**  
**Renata Maria dos Santos Celeghini**  
**(Coordenador(a))**

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
**Bairro:** Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887  
**UF:** SP **Município:** CAMPINAS  
**Telefone:** (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br