

**Universidade de São Paulo**  
**Faculdade de Saúde Pública**

**Lipoproteína de Baixa Densidade Eletronegativa  
(LDL<sup>-</sup>) em Indivíduos com Diferentes Níveis de Risco  
Cardiovascular:  
Parâmetros Nutricionais e Bioquímicos**

**Ana Paula de Queiroz Mello**

**Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Saúde Pública para  
obtenção do título de Mestre em Saúde  
Pública.**

**Área de concentração: Nutrição**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nágila Raquel  
Teixeira Damasceno**

**São Paulo**

**2007**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**Universidade de Sao Paulo**  
**Faculdade de Saúde Pública**

**Lipoproteína de Baixa Densidade Eletronegativa  
(LDL<sup>-</sup>) em Indivíduos com Diferentes Níveis de Risco  
Cardiovascular:  
Parâmetros Nutricionais e Bioquímicos**

**Ana Paula de Queiroz Mello**

**Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Saúde Pública da  
Faculdade de Saúde Pública da  
Universidade de São Paulo para obtenção  
do título de Mestre em Saúde Pública.**

**Área de concentração: Nutrição**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nágila Raquel  
Teixeira Damasceno**

**São Paulo**

**2007**

*“Uma coisa que aprendi ao longo da vida: que toda a nossa ciência, comparada com a realidade, é primitiva e infantil, e, ainda assim, é o bem mais precioso que temos”.*

*Albert Einstein*

## ***AGRADECIMENTOS ESPECIAIS***

À **Deus**, presença constante em minha vida.

Aos meus pais, **Flávio e Dora**, pelo incentivo, oportunidade, reconhecimento e paciência.

À minha avó, **Serafina Guimarães**, pelo exemplo de amor e orações diárias. Ao **tio Mano e Luiz**, por serem pessoas ímpares, pela abdicação e caronas ao longo destes anos.

## ***AGRADECIMENTOS***

À Profa Dra Nágila Damasceno, pela amizade e dedicação constante com que vem me orientando neste intenso e, ao mesmo tempo, prazeroso caminho da pesquisa..... incentivando as descobertas e pontuando as direções.

À Profa Dra Dulcinéia Abdalla, ao Prof Dr Magnus Gidlund e à Profa Dra Marisa Passarelli pela colaboração e apoio técnico ao disponibilizar espaço e equipamentos dos laboratórios. E à Dra Valéria Nunes pelas discussões sempre valiosas.

Ao Dr Raul Dias e ao Prof Dr Raul Maranhão pela assistência e colaboração durante a coleta de dados no InCor.

Ao Dr Egídio Dórea e à Dra Márcia Bernick por me proporcionar condições necessárias para a coleta de dados no HU/USP.

Aos funcionários do Laboratório do Centro de Saúde Escola "Geraldo de Paula Souza" pela disposição em nos ajudar.

Às amigas de todos os dias, Sara, Karin, Isis, Letícia e Elaine, que sempre foram prestativas e indispensáveis nesta

etapa da minha vida. Agradeço, nas mesmas proporções, à **Patrícia, Aline 1, Aline 2, Claudia e Anelise** pelas inúmeras semanas de força-tarefa e dedicação. E à **Camila e Bruna** pela atenção e criatividade. Agradeço a todas pelas farras, risadas, amizade, energia positiva e idéias, mesmo aquelas que aparentemente nada tinham a ver com o trabalho.

Aos **voluntários**, sem os quais não seria possível a realização deste estudo.

Agradeço à **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES** e à **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP** pelo apoio financeiro.

## Resumo

Mello, APQ. Lipoproteína de Baixa Densidade Eletronegativa (LDL<sup>-</sup>) em Indivíduos com Diferentes Níveis de Risco Cardiovascular: Parâmetros Nutricionais e Bioquímicos [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo - USP; 2007.

**Introdução:** As dislipidemias representam um dos principais fatores de risco para as doenças cardiovasculares e, particularmente, para a aterosclerose. Portanto, todos os fatores nutricionais capazes de reduzir a sua incidência ou melhorar seu quadro clínico, representam ferramentas importantes para sua prevenção ou tratamento. Além das dislipidemias, as modificações oxidativas da lipoproteína de baixa densidade (LDL) têm relação direta com o processo aterosclerótico. **Objetivos:** O objetivo deste estudo foi avaliar a possível influência dos Parâmetros Nutricional (alimentar e antropométrico) e Bioquímicos sobre a geração de LDL<sup>-</sup> em indivíduos com diferentes níveis de risco cardiovascular. **Métodos:** Para a consecução destes objetivos foram avaliados indivíduos com hipercolesterolemia associada à LDL com (n = 10) ou sem (n = 33) aterosclerose, quando comparados aos indivíduos normocolesterolêmicos (n = 30). A partir desta amostra avaliou-se o hábito alimentar (questionário quantitativo de frequência alimentar), a antropometria (peso, altura, circunferência da cintura, % de gordura corporal e % de massa magra), o perfil lipídico (colesterol e triacilgliceróis), o conteúdo de LDL<sup>-</sup> (plasma, LDL total e sub-frações de LDL) e os auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup> no plasma. O diagnóstico de aterosclerose foi feito através da pesquisa dos prontuários e da avaliação do índice tornozelo-braço (ITB). **Resultados:** A análise do perfil lipídico indicou que a concentração de colesterol plasmático no grupo Controle ( $180,5 \pm 19,6$  mg/dL) foi menor que a observada nos grupos Hipercolesterolêmico – Hiper (-) ( $243,5 \pm 29,7$  mg/dL) e Hipercolesterolêmico com aterosclerose – Hiper (+) ( $221,1 \pm 19,6$  mg/dL), sendo a dislipidemia observada resultante do acúmulo de colesterol na LDL. O monitoramento da LDL<sup>-</sup> no plasma e de seus auto-anticorpos não apresentou diferença significativa entre os grupos. Entretanto, quando se analisou a LDL<sup>-</sup> na LDL total verificamos que o grupo Controle apresentou conteúdo inferior ( $850,2 \pm 337,8$  DO) aos grupos Hiper (-) ( $1253,1 \pm 340,9$  DO) e Hiper (+) ( $1258,5 \pm 207,4$  DO). Em relação ao hábito alimentar, o grupo Controle apresentou menor consumo de carboidratos e vitamina C, quando comparado ao grupo Hiper (+), e este consumo inferior de ácido graxo monoinsaturado (AGM), ácido graxo poliinsaturado (AGP) e ácido linoléico que



o grupo Hiper (-). Não observamos diferença significativa nos parâmetros antropométricos. Considerando que o conteúdo de LDL<sup>-</sup> no plasma e na LDL (+) densa apresentou correlação positiva, além das correlações positivas entre LDL<sup>-</sup> isolada e normalizada pelas proteínas e colesterol tanto no plasma, quanto na LDL total e nas sub-frações de LDL, estabelecemos correlações entre estas variáveis e os parâmetros clínicos, de consumo, de composição corporal e bioquímicos. Neste sentido, observamos que houve correlação da pressão arterial sistólica com LDL<sup>-</sup> no plasma ( $r = 0,26$  e  $p = 0,03$ ) e escore de risco de *Framingham* com LDL<sup>-</sup> na LDL ( $r = 0,36$  e  $p = 0,01$ ). Em relação ao consumo alimentar, houve correlação entre o consumo de gordura e colesterol com o conteúdo de LDL<sup>-</sup> no plasma ( $r = 0,27$  e  $p = 0,02$ ;  $r = 0,27$  e  $p = 0,02$ , respectivamente). Verificamos também correlação entre LDL<sup>-</sup> presente na sub-fração menos densa da LDL com o consumo de AGM ( $r = -0,27$  e  $p = 0,02$ ), AGP ( $r = -0,23$  e  $p = 0,05$ ), ácido oléico ( $r = -0,23$  e  $p = 0,05$ ), ácido linoléico ( $r = -0,31$  e  $p = 0,01$ ) e vitamina A ( $r = -0,25$  e  $p = 0,03$ ). As variáveis antropométricas e de composição corporal não apresentaram correlação significativa com a geração de LDL<sup>-</sup> no plasma, na LDL total e nas sub-frações de LDL, nem com seus auto-anticorpos. Quando avaliamos o perfil lipídico e a LDL<sup>-</sup> na LDL, observamos correlação positiva com colesterol total ( $r = 0,52$  e  $p \leq 0,001$ ), colesterol associado à LDL, pela equação de Friedewald e analisado na lipoproteína isolada ( $r = 0,59$  e  $p \leq 0,001$ ;  $r = 0,75$  e  $p \leq 0,001$ , respectivamente), as relações colesterol total/HDL ( $r = 0,45$ ,  $p \leq 0,001$ ) e LDL/HDL ( $r = 0,47$ ,  $p \leq 0,001$ ) e colesterol não HDL ( $r = 0,74$ ,  $p \leq 0,001$ ). **Conclusões:** Os resultados obtidos mostram que a LDL<sup>-</sup>, sobretudo quando analisada na LDL, é um importante e sensível parâmetro bioquímico associado ao perfil lipídico, a outros parâmetros de risco cardiovascular e ao consumo alimentar. Portanto, sugere-se que o monitoramento da LDL<sup>-</sup> faça parte dos protocolos clínicos, visto que este marcador sofre variação em função de fatores exógenos, clínicos e bioquímicos.

**Descritores:** Nutrição, Oxidação, Lipoproteína de baixa densidade eletronegativa, Ateroscelrose e Antropometria.

## Abstract

Mello, APQ. Electronegative low density lipoprotein (LDL<sup>-</sup>) in subjects with different levels of cardiovascular risk: Nutritional and Biochemical Parameters [Dissertation]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo - USP; 2007.

**Introduction:** The dyslipidemias is very important to coronary artery disease (CAD) development, specially in atherosclerosis. Therefore, all nutritional factors able to decrease its incidence represent important tools in the prevent or treatment. In this respect, oxidized low-density lipoprotein (LDL) has been associated to atherosclerotic process. **Objectives:** Our goal was to evaluate the influence of the Nutritional (intake and anthropometria) and Biochemical Parameters in generation of LDL<sup>-</sup> in subjects with different levels of cardiovascular risk. **Methods:** Subjects with hypercholesterolemia associated to LDL with (n = 10) or without (n = 33) atherosclerosis and normocholesterolemic (n = 30) were selected. Habitual food intake (quantitative food frequency questionnaire), anthropometric parameters (weight, heath, waist circumference, % body fat and % mass muscular) were evaluated. In plasma we evaluated lipid profile (cholesterol and triglycerides), LDL<sup>-</sup> content (plasma, LDL and LDL subfractions) and auto-antibodies anti-LDL<sup>-</sup>. Atherosclerosis was confirmed by register and ankle-brachial blood pressure index (ABI). **Results:** The plasma cholesterol in group Control (180.5 ± 19.6 mg/dL) was lower than compared to Hiper (-) group (243.5 ± 29.7 mg/dL) and Hiper (+) group (221.0 ± 19.6 mg/dL). This dyslipidemia was associated to high levels of LDL-cholesterol. The content of LDL<sup>-</sup> in plasma and its autoantibodies against did not have any significant difference between groups. However, when LDL<sup>-</sup> content was analyzed in total LDL we verified that Control group showed menas lower (850.2 ± 337.8 DO) than Hiper (-) (1253.1 ± 340.9 DO) and Hiper (+) (1258.5 ± 207.4 DO) groups. Carbohydrate and vitamin C intake in Control group was lower than Hiper (+) group. Monounsaturated fatty acids (MUFA), polyunsaturated fatty acids (PUFA) and acid linoleic intake in Hiper (+) was higher than Hiper (-) group. No significant differences in anthropometric parameters were observed when all groups were evaluated. When we analyzed the possible association between variables, we verified positive correlation between blood pressure arterial systolic with LDL<sup>-</sup> plasma (r = 0.26 and p = 0.03) and Framingham risk score with LDL<sup>-</sup> in LDL (r = 0.36 and p =

0.01). Total fat and cholesterol intake was correlated to LDL<sup>-</sup> plasma ( $r = 0.27$  and  $p = 0.02$ ;  $r = 0.27$  and  $p = 0.02$ , respectively). In addition we observed a correlation between LDL<sup>-</sup> in dense low LDL subfraction with MUFA ( $r = -0.27$  and  $p = 0.02$ ), PUFA ( $r = -0.23$  and  $p = 0.05$ ), acid oleic ( $r = -0.23$  and  $p = 0.05$ ), acid linoleic ( $r = -0.31$  and  $p = 0.01$ ) and vitamin A ( $r = -0.25$  and  $p = 0.03$ ). The anthropometric parameters did not show any significant correlation with the LDL<sup>-</sup> content and its autoantibodies. LDL<sup>-</sup> in LDL had positive correlation with total cholesterol ( $r = 0.52$  and  $p \leq 0.001$ ), cholesterol associated LDL as calculated by Friedewald equation and crude analysis ( $r = 0.59$  and  $p \leq 0.001$ ;  $r = 0.75$  and  $p \leq 0.001$ , respectively), TC/HDL ratio ( $r = 0.45$  and  $p \leq 0.001$ ), LDL/HDL ratio ( $r = 0.47$  and  $p \leq 0.001$ ) and non cholesterol HDL ( $r = 0.74$  and  $p \leq 0.001$ ). **Conclusion:** These results showed that certain component diet could modulate LDL<sup>-</sup> generation. Furthermore, this particle was correlated with the lipid profile and some of the factors that predispose for cardiovascular disease.

**Key words:** Nutrition, Oxidation, Electronegative low density lipoprotein, Atherosclerosis and Anthropometry.

# Índice

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	21
1.1 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E FISIOPATOLÓGICOS DAS DISLIPIDEMIAS .....	21
1.2 OXIDAÇÃO DE LIPOPROTEÍNAS E DOENÇAS CARDIOVASCULARES .....	24
1.3 ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DA ATEROSCLEROSE .....	29
1.4 INFLAMAÇÃO E SISTEMA IMUNOLÓGICO NA ATEROSCLEROSE .....	30
1.5 PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS .....	32
1.6 NUTRIÇÃO E DOENÇAS CARDIOVASCULARES	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>2. JUSTIFICATIVA</b> .....	38
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	40
3.1 GERAL .....	40
3.2 ESPECÍFICOS .....	40
<b>4. METODOLOGIAS</b> .....	42
4.1 CASUÍSTICA .....	42
4.1.1 Tamanho da Amostra .....	42
4.2 DELINEAMENTO CLÍNICO DO ESTUDO .....	43
4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO .....	44
4.3.1 Grupo Controle .....	44
4.3.2 Grupo Hiper (-) .....	45
4.3.3 Grupo Hiper (+) .....	46
4.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO .....	47
4.5 ANÁLISE DE RISCOS E BENEFÍCIOS .....	48
4.6 AVALIAÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA .....	48
4.7 ESTRATIFICAÇÃO DE RISCO PARA DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA .....	49
4.8 AVALIAÇÃO DO ÍNDICE TORNOZELO-BRAÇO .....	49
4.9 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR .....	50
4.10 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA .....	51
4.11 OBTENÇÃO DE SANGUE E LIPOPROTEÍNAS .....	54

4.11.1	Obtenção da LDL mais densa e menos densa .....	55
4.12	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE COLESTEROL E TRIACILGLICERÓIS .....	55
4.12.1	Determinação dos Índices de Castelli I e II.....	57
4.12.2	Determinação do colesterol não associado à HDL.....	57
4.12.3	Determinação do percentual de colesterol em relação aos lipídeos totais no plasma.....	57
4.13	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS .....	58
4.14	DETECÇÃO DE LDL <sup>-</sup> .....	58
4.15	SEPARAÇÃO DE LDL <sup>-</sup> .....	59
4.16	DETECÇÃO DE AUTO-ANTICORPOS ANTI-LDL <sup>-</sup> .....	61
4.17	ASPECTOS ÉTICOS .....	61
4.18	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	62
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	64
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA .....	64
5.2	CARACTERIZAÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA .....	65
5.3	HISTÓRIA CLÍNICA E FATORES DE RISCO PARA DAC.....	67
5.4	AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR.....	70
5.5	AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA .....	73
5.6	PERFIL LIPÍDICO.....	74
5.7	DETECÇÃO DE LDL <sup>-</sup> .....	80
5.8	SEPARAÇÃO DE LDL <sup>-</sup> .....	83
5.9	DETECÇÃO DE AUTO-ANTICORPOS ANTI-LDL <sup>-</sup> NO PLASMA .....	84
5.10	CORRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS DE ESTUDO.....	85
<b>6.</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	95
<b>7.</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	113
<b>8.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	115
	<i>Anexos</i> .....	138

## Lista de Quadros

**Quadro 1:** Valores de referência para índice de massa corporal (IMC).....52

**Quadro 2:** Valores de referência de circunferência da cintura (CC) para classificação de obesidade abdominal .....53

**Quadro 3:** Valores de referência de lipídeos para indivíduos com idade >20 anos. .56

## Lista de Figuras

<b>Figura 1:</b> Possíveis vias de geração da LDL <sup>-</sup> e potenciais mecanismos de ação. ....	27
<b>Figura 2:</b> Protocolo de coleta de dados. ....	44
<b>Figura 3:</b> Esquema para separação da LDL <sup>-</sup> .....	60
<b>Figura 4:</b> Organograma de seleção dos indivíduos inclusos no estudo.....	64
<b>Figura 5:</b> Cromatograma de separação de LDL nativa e LDL <sup>-</sup> .....	83

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1:</b> Distribuição dos indivíduos por grupos de estudo, segundo sexo e faixa etária, Brasil, 2005-2006. ....	66
<b>Tabela 2:</b> Aspectos clínicos associados às doenças arteriais coronarianas (DAC) dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), Brasil, 2005-2006. ....	68
<b>Tabela 3:</b> Fatores de risco para DAC dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), Brasil, 2005-2006. ....	68
<b>Tabela 4:</b> Escore de risco de <i>Framingham</i> dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), Brasil, 2005-2006. ....	69
<b>Tabela 5:</b> Classificação de risco para doença arterial coronariana dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), segundo o escore de risco de <i>Framingham</i> , Brasil, 2005-2006. ....	69
<b>Tabela 6:</b> Avaliação da pressão arterial e do índice tornozelo-braço dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), Brasil, 2005-2006. ....	70
<b>Tabela 7:</b> Consumo diário de energia, macronutrientes, micronutrientes e fibras brutas dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), Brasil, 2005-2006. ....	71
<b>Tabela 8:</b> Consumo diário de grupos alimentares dos indivíduos dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), Brasil, 2005-2006. ....	72
<b>Tabela 9:</b> Valores médios do índice de massa corporal (IMC), circunferência da cintura (CC), porcentagem de gordura corporal e porcentagem de massa magra dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), Brasil, 2005-2006. ....	73
<b>Tabela 10:</b> Correlações entre o conteúdo de LDL <sup>-</sup> no plasma, na LDL total e nas sub-frações de LDL para todos os indivíduos do estudo, Brasil, 2005-2006. ....	85



## Lista de Gráficos

- Gráfico 1:** Idade média e desvio padrão dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+).66
- Gráfico 2:** Perfil lipídico dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), segundo fórmula de Friedewald. ....75
- Gráfico 3:** Índice de Castelli I e II, concentração de colesterol não associado à HDL e percentual de colesterol em relação aos lipídeos totais dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+). ....76
- Gráfico 4:** Concentração de colesterol e triacilgliceróis associado às lipoproteínas (VLDL, LDL e HDL) dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+). ....77
- Gráfico 5:** Concentração de colesterol e triacilgliceróis associado às sub-frações de LDL (LDL mais densa e menos densa) dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+)..79
- Gráfico 6:** Detecção de LDL<sup>-</sup> no plasma, na LDL total, na LDL mais densa e na LDL menos densa dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+). ....82
- Gráfico 7:** Concentração de auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup> dos grupos Controle, Hiper(-) e Hiper (+). ....84
- Gráfico 8:** Correlação entre a geração de LDL<sup>-</sup> no plasma e LDL<sup>-</sup> na LDL mais densa. ....86
- Gráfico 9:** Correlações entre parâmetros clínicos e geração de LDL<sup>-</sup> no plasma e na LDL. ....87
- Gráfico 10:** Correlações entre variáveis de consumo e geração de LDL<sup>-</sup> na LDL menos densa. ....88
- Gráfico 11:** Correlações entre variáveis de consumo ajustadas pela energia e geração de LDL<sup>-</sup> no plasma. ....89

**Gráfico 12:** Correlações entre variáveis de consumo ajustadas pela energia e geração de LDL<sup>-</sup> na LDL menos densa. ....90

**Gráfico 13:** Correlações entre colesterol total e LDL-c (segundo fórmula de Friedewald e LDL-c na lipoproteína isolada) com geração de LDL<sup>-</sup> na LDL. ....91

**Gráfico 14:** Correlações entre Índices de Castelli I e II e colesterol não associado à HDL, pela fórmula de Friedewald e na lipoproteína isolada, com geração de LDL<sup>-</sup> na LDL. ....92

**Gráfico 15:** Correlação entre conteúdo de LDL<sup>-</sup> no plasma e seus auto-anticorpos. 93

## Siglas Utilizadas

ACAT	Acil-colesterol-acil-transferase
ANOVA	Análise de variância
Apo B	Apolipoproteína B
Apo CIII	Apolipoproteína CIII
Apo E	Apolipoproteína E
ATP III	<i>Adult Treatment Panel III</i>
BHT	2,6-di-tert-butil-p-hidroxitolueno
BIA	Impedância bioelétrica
CC	Circunferência da cintura
CETP	Proteína de transferência de éster de colesterol
DAC	Doença arterial coronariana
DAP	Doença arterial periférica
DRI's	<i>Dietary Reference Intakes</i>
EDTA	Ácido etileno-diaminotetraacético
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FPLC	<i>Fast protein liquid chromatography</i>
FSP	Faculdade de saúde Pública
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HDL-c	Colesterol associado à lipoproteína de alta densidade
HDL-tg	Triacilgliceróis associados à lipoproteína de alta densidade
HF	Hipercolesterolemia familiar
Hiper (-)	Hipercolesterolêmico sem diagnóstico confirmado de aterosclerose
Hiper (+)	Hipercolesterolêmico com diagnóstico confirmado de aterosclerose
HMG-CoA redutase	3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase
HU	Hospital Universitário
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICAM-1	Moléculas de adesão intracelular
IDF	<i>International Diabetes Federation</i>
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
IL-6	Interleucina - 6
IL-8	Interleucina - 8
IMC	Índice de massa corporal
InCor	Instituto do Coração
INF- $\gamma$	Interferon - gama
ITB	Índice tornozelo-braço
LCAT	Lecitina acil-transferase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDL <sup>-</sup>	Lipoproteína de baixa densidade eletronegativa

LDL-c	Colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade
LDLox	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
LDL-tg	Triacilgliceróis associados à lipoproteína de baixa densidade
LOX-1	<i>Lectin-like oxidized LDL receptor-1</i>
Lp(a)	Lipoproteína (a)
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos
NCEP	<i>National Cholesterol Education Program</i>
NEFA	Ácidos graxos não esterificados
OMS	Organização Mundial da Saúde
PA MMII	Pressão arterial de membros inferiores
PA MMSS	Pressão arterial de membros superiores
PAF-AH	Fator ativador de plaquetas acetil-hidrolase
PBS	<i>Phosphate-buffered saline</i>
PCR	Proteína C reativa
PLA <sub>2</sub>	Fosfolipase A <sub>2</sub>
PMSF	Fluoreto de fenilmetilsulfonila
QQFA	Questionário quantitativo de frequência alimentar
QM	Quilomícrons
R	Resistência
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SBH	Sociedade Brasileira de Hipertensão
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
TBARS	<i>Thiobarbituric acid reactive substance</i>
TBCA	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
TMB	Tetrametilbenzina
USDA	<i>Nutrient Database for Standard Reference Release</i>
USP	Universidade de São Paulo
VCAM-1	Moléculas de adesão das células vasculares
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
VLDL-c	Colesterol associado à lipoproteína de muito baixa densidade
VLDL-tg	Triacilgliceróis associados à lipoproteína de muito baixa densidade
Xc	Reactância

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E FISIOPATOLÓGICOS DAS DISLIPIDEMIAS**

Atualmente, as doenças cardiovasculares representam uma das principais causas de morbi-mortalidade no mundo ocidental, sendo responsáveis por mais de 30% de todas as mortes, seguidas pelo câncer e doença respiratória crônica. De acordo com a Organização Mundial da Saúde - OMS, o aumento na incidência das doenças cardiovasculares tende a persistir, agravando as condições de saúde dos países em desenvolvimento (OMS, 2006).

Diversos indicadores de saúde apresentam as doenças cardiovasculares como uma das principais causas de aposentadorias, internações e mortalidade. Em 2000, as doenças cardiovasculares foram responsáveis pela movimentação financeira de recursos públicos de, aproximadamente, 900 milhões de dólares em hospitalização no Brasil; representando a 3ª causa de permanência hospitalar prolongada. Entre 1991 e 2000, os custos hospitalares no país, atribuídos às doenças cardiovasculares, aumentaram 176%. Assim como nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, no Brasil, as doenças do aparelho circulatório constituem a principal causa de óbito (32%), sendo as doenças isquêmicas do coração responsáveis por até 80% dos episódios de morte súbita (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

Neste contexto, as dislipidemias, especialmente devido à elevação da lipoproteína de baixa densidade (LDL), são consideradas como fator de risco fundamental para as doenças cardiovasculares e importante indicador de doença isquêmica coronariana (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA - SBC, 2007).

Atualmente, um em cada cinco brasileiros tem concentração de colesterol total acima de 200,0 mg/dL, ou seja, cerca de 38,9 milhões de pessoas têm colesterol

classificado como limítrofe ou alto. Estes valores representam 21,6 % da população brasileira e colocam o Brasil próximo dos Estados Unidos, onde 25 % dos americanos apresentam colesterol total acima de 200,0 mg/dL (SBC, 2005).

Clinicamente, as dislipidemias podem ser classificadas em quatro categorias: I - Hipercolesterolemia isolada; II - Hipertrigliceridemia isolada; III - Hiperlipidemia mista (aumento de colesterol e triacilgliceróis) e; IV - Diminuição isolada de lipoproteína de alta densidade (HDL) ou associada ao aumento de colesterol total ou triacilgliceróis. Além destas formas, há também o aumento de Lipoproteína (a) [Lp(a)] que pode estar associado ou não com a elevação de colesterol e triacilgliceróis isolado ou associado (SBC, 2001).

Do ponto de vista etiológico, as dislipidemias podem ser classificadas em primárias e secundárias. As dislipidemias primárias são conseqüentes às causas genéticas, onde algumas só se manifestam em função da influência ambiental (dieta inadequada e sedentarismo). As dislipidemias secundárias podem estar associadas às outras afecções (hipotireoidismo, diabetes mellitus, síndrome nefrótica, insuficiência renal crônica, obesidade, hepatopatias colestáticas crônicas etc), ao uso de medicamentos (uso de altas doses de diuréticos, betabloqueadores, corticosteróides, anabolizantes, anticoncepcionais, ciclosporinas, inibidores de proteases etc) e aos hábitos de vida inadequados (tabagismo e etilismo). O diagnóstico de dislipidemia secundária vem se tornando mais comum, devido ao crescimento da população idosa, onde a presença de co-morbidades é elevada (SBC, 2001) e ao aumento na incidência de obesidade cada vez mais precoce na população (OMS, 2006).

Do ponto de vista fisiopatológico, as dislipidemias resultam de alterações no metabolismo das lipoproteínas. Estas partículas são responsáveis pelo transporte dos lipídeos no plasma, sendo compostas, principalmente, por lipídeos e proteínas chamadas apolipoproteínas. Existem cinco grandes classes de lipoproteínas: os quilomícrons (QM), as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), as lipoproteínas de densidade intermediária (IDL), as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e as lipoproteínas de alta densidade (HDL) (SBC, 2001).

O QM originado no intestino é chamado de QM nascente, seus principais componentes são os triacilgliceróis. Esta partícula apresenta função importante no transporte dos lipídeos provenientes da dieta para o músculo e tecido adiposo, para que possam ser utilizados como substrato energético ou de armazenamento. Também pode transportar colesterol da dieta para o fígado, que será utilizado na síntese de ácidos biliares e de novas lipoproteínas (CHOPRA e THURNHAM, 1999).

A VLDL é produzida pelo fígado e contém altas concentrações de triacilgliceróis, parte deles provenientes da dieta e transportados pelos quilomícrons. Sua principal função é fornecer lipídeos para os tecidos periféricos. Através da ação da lipase lipoprotéica, os triacilgliceróis associados à partícula de VLDL são degradados a ácidos graxos livres, que são captados pelas células. Com a perda dos triacilgliceróis, as partículas de VLDL são progressivamente transformadas em IDL e, finalmente, numa partícula rica em colesterol, a LDL (CHOPRA e THURNHAM, 1999).

A LDL constitui um grupo heterogêneo de partículas com diferentes tamanhos, densidades, cargas e composição química, responsável pelo transporte de colesterol aos tecidos periféricos. Após a endocitose da LDL, a partícula é degradada por enzimas lisossômicas e o colesterol é liberado para o citoplasma da célula. O aumento do colesterol intracelular promove três situações distintas nas células: I-diminuição da síntese de colesterol, através da inibição da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA redutase); II - aumento da esterificação de colesterol, pela ativação da acil-colesterol-acil-transferase (ACAT) e; III - diminuição da expressão dos receptores B/E e, conseqüente, aumento das partículas de LDL na circulação (WITZTUM, 2004). De acordo com seu tamanho e carga, podemos identificar duas subclasses de LDL no plasma, denominadas Fenótipo A e B. O Fenótipo A caracteriza-se por predominância de partículas grandes e leves e o Fenótipo B apresenta partículas de LDL pequenas e densas, associadas às concentrações plasmáticas de triacilgliceróis elevadas e de colesterol associado à HDL reduzido, conferindo uma característica mais aterogênica. A redução da concentração plasmática de colesterol e triacilgliceróis através da dieta ou hipolipemiantes orais pode modificar o perfil das subclasses de LDL, promovendo o aumento do número das partículas

maiores (SBC, 2001). A possível associação entre o aumento da eletronegatividade e da densidade da partícula de LDL poderia contribuir para a elevação do risco de doença cardiovascular (AUSTIN et al., 1988 e SEVANIEN et al., 1996).

A HDL é sintetizada no fígado e intestino, dando origem a HDL nascente. Em adição, a lipólise do QM e da VLDL e a captação de lipídeos das células periféricas contribuem para a formação da HDL madura na corrente sanguínea. Tanto as lipoproteínas nascentes, quanto as maduras apresentam funções importantes, tais como: I - captar o colesterol livre proveniente dos tecidos extra-hepáticos; II - esterificar o colesterol livre através da ação da lecitina colesterol acil-transferase (LCAT) e; III - transferir o colesterol para o fígado ou para as partículas LDL, IDL e VLDL pela ação da proteína de transferência de éster de colesterol (CETP). Neste contexto, a HDL, ao contrário das outras lipoproteínas, apresenta relação inversa com o risco cardiovascular, devido sua função anti-aterogênica associada ao transporte reverso de colesterol, inibição da expressão das moléculas de adesão, atividades antiinflamatórias e antioxidantes, sendo esta última, devido à presença da enzima paraoxonase (CHOPRA e THURNHAM, 1999; RYE et al., 1999 e VAN HIMBERGEN et al., 2005). Além dessas funções, alguns estudos sugerem que a capacidade de captação de lipídios e o tamanho da partícula de HDL estejam associados com sua ação cardio-protetora (ROLAND e MARANHÃO, 1993; EMERSON e MARANHÃO, 2004). Portanto, tem sido demonstrado que o aumento das concentrações plasmáticas de triacilgliceróis, de LDL e de colesterol total ou a diminuição da concentração plasmática de HDL, estão associados à diminuição do tamanho da partícula de HDL, com conseqüente aumento do risco cardiovascular (TANGNEY et al., 2001; XU e FU, 2003 e YANQ et al., 2005).

## 1.2 OXIDAÇÃO DE LIPOPROTEÍNAS E DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Embora seja amplamente documentada a relação positiva entre as dislipidemias e o desenvolvimento das doenças cardiovasculares e, particularmente, da aterosclerose; estudos



realizados nas duas últimas décadas têm demonstrado que além das alterações no perfil lipídico, as modificações oxidativas das lipoproteínas são essenciais à iniciação e progressão da aterosclerose (SEVANIAN et al., 1999; TOSHIMA et al., 2000 e HULTHE e FAGERBERG, 2002).

Vários estudos mostram que a LDL modificada por oxidação *in vitro* apresenta características inflamatórias, que favorecem a ativação de citocinas e agentes quimiotáticos, associados ao processo de aterosclerose (BERLINER e HEINECKE, 1996 e HULTHE e FAGERBERG, 2002).

Apesar destas observações, a extrapolação dos resultados, obtidos através de modelos oxidativos *in vitro*, para sistemas biológicos, ainda é conflitante. Neste sentido, procurou-se identificar sub-frações da LDL que apresentassem *in vivo*, características oxidativas. AVOGARO et al. (1988), AVOGARO et al. (1991), CAZZOLATO et al. (1991), DEJAGER et al. (1993), HODIS et al. (1994), CHANG et al. (1997) e SEVANIAN et al. (1997) verificaram a presença de uma LDL oxidada na circulação de indivíduos normolipidêmicos (< 5% da LDL total) e dislipidêmicos (> 5% da LDL total), assim como buscaram caracterizar o papel citotóxico e bioquímico desta partícula. Estes autores demonstraram que esta LDL oxidada *in vivo* tem carga mais negativa, aumento no conteúdo de dienos conjugados, nas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), nos óxidos de colesterol, concentração reduzida de  $\alpha$ -tocoferol e pobre afinidade com o receptor de LDL (receptor B/E). Ao contrário da LDL oxidada *in vitro*, a LDL<sup>-</sup> não mostrou fragmentação da Apo B e outras alterações decorrentes de uma oxidação excessiva (BERLINER et al., 1990). Estas observações foram posteriormente confirmadas por DAMASCENO et al. (2006), que verificaram através de dicroísmo circular, que a LDL<sup>-</sup> apresentou discretas alterações na estrutura secundária, quando comparada à LDL nativa.

De acordo com SEVANIAN et al. (1996), a maior proporção de LDL<sup>-</sup> foi encontrada na sub-fração mais densa e menor da LDL (Fenótipo B), podendo estar associada à maior susceptibilidade à oxidação desta partícula. O aumento da carga negativa na LDL pode associar esta partícula à inflamação presente na aterosclerose, além dos

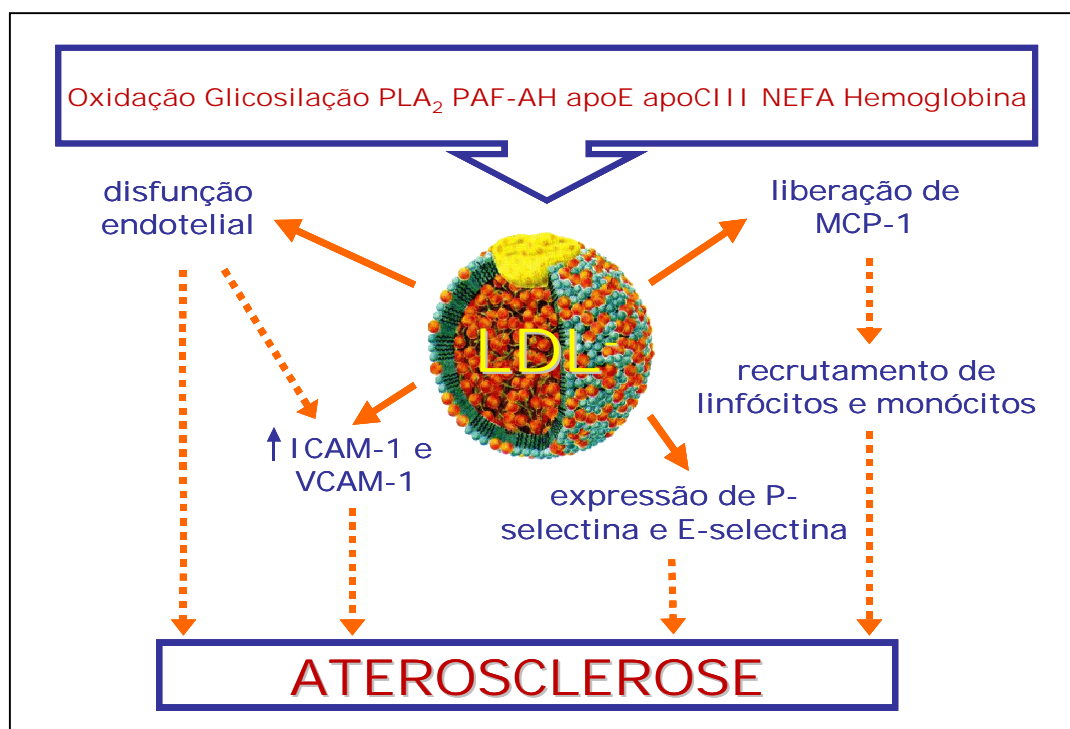
eventos oxidativos nos quais está envolvida (SÁNCHEZ-QUESADA et al., 2003 e LIBBY, 2006).

Embora outros autores tenham identificado a LDL<sup>-</sup> no plasma, existem controvérsias quanto a sua origem, pois a inexistência de produtos de peroxidação lipídica nesta partícula tem sido documentada (SÁNCHEZ-QUESADA et al., 2002). De acordo com SÁNCHEZ-QUESADA et al. (2004), sua origem pode ser não somente através da modificação oxidativa da LDL (LDLox), mas também através da glicosilação não enzimática; modificação enzimática por fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) ou pelo fator de ativação de plaquetas acetil-hidrolase (PAF-AH); alterações no catabolismo das lipoproteínas, promovendo aumento das Apo E e Apo CIII; enriquecimento de ácidos graxos não esterificados (NEFA) no plasma ou reação cruzada com hemoglobina e, possivelmente, outros mecanismos não identificados que contribuem para o aumento da proporção de LDL<sup>-</sup> no plasma. Apesar da potencial heterogeneidade na sua origem, a LDL<sup>-</sup> possui características inflamatórias e citotóxicas nas células endoteliais, e está aumentada em pacientes com alto risco para doença cardiovascular e na hipercolesterolemia familiar (SÁNCHEZ-QUESADA et al., 2003), na hipertrigliceridemia (SÁNCHEZ-QUESADA et al., 2002), no diabetes mellitus tipo 1 (SÁNCHEZ-QUESADA et al., 1996), no diabetes mellitus tipo 2 (YANO et al., 2004), em pacientes em hemodiálise (ZIOZENKOVA et al., 1999) ou pacientes com doença arterial coronariana diagnosticada por angiografia (TOMASIK et al., 2003).

Atualmente, sugere-se que a modificação oxidativa da LDL ocorra localmente na parede da artéria (BENÍTEZ et al., 2006). A LDL modificada, com aumento de carga negativa, induz disfunção endotelial com expressão de moléculas de adesão intracelular (ICAM-1), moléculas de adesão das células vasculares (VCAM-1), P-selectina, E-selectina, fator estimulador de colônia de macrófagos e expressão da proteína quimiotática de monócitos (MCP-1). Estes fatores promovem recrutamento de linfócitos T e monócitos, assim como favorecem a migração destes para o tecido subendotelial através da liberação de agentes quimiotáticos, como fibrinopeptídeos, linfocinas e fatores de crescimento. Em seguida, ocorre a diferenciação de monócitos em macrófagos, estimulados pelas citocinas

(Interleucina-1, Fator de necrose tumoral- $\alpha$ ) que amplificam e mantêm os sinais pró-inflamatórios da aterosclerose (FROSTEGARD et al., 1990; ROSS, 1999 e GOTTLIEB et al., 2005) (**Figura 1**).

**Figura 1:** Possíveis vias de geração da LDL<sup>-</sup> e potenciais mecanismos de ação.



LDL: lipoproteína de baixa densidade eletronegativa, PLA<sub>2</sub>: fosfolipase A<sub>2</sub>, PAF-AH: fator de ativação de plaquetas acetil-hidrolase, Apo E: apolipoproteína E, Apo CIII: apolipoproteína CIII, NEFA: ácido graxo não esterificado, ICAM-1: molécula de adesão intracelular, VCAM-1: molécula de adesão das células vasculares, MCP-1: proteína quimiotática de monócitos. Figura adaptada de Sánchez-Quesada et al. (2004).

Os macrófagos possuem a capacidade de expressar mais de oito tipos de receptores *scavengers*, que reconhecem partículas de LDL<sup>-</sup> e, ao contrário dos receptores de LDL (receptor B/E), não são influenciados pelo aumento na concentração intracelular de colesterol (BROWN et al., 1980; LUCAS e GREAVES, 2001). Ao mesmo tempo, a citotoxicidade nas células endoteliais inibe a migração da LDL modificada do espaço subendotelial, lesando a camada basal e fazendo com que a agressão envolva também a proliferação de células musculares lisas. O acúmulo de LDL modificada no interior dos macrófagos dá origem às células espumosas, que são encontradas no estágio inicial do desenvolvimento da placa aterosclerótica. A deposição de células espumosas no *core*

lipídico torna a placa mais frágil, favorecendo a ruptura da capa fibrótica e formação do trombo, sendo considerada a principal causa de evento cardiovascular agudo (ROSS, 1999).

Além dos receptores clássicos associados à captação de LDL oxidada, tem sido investigada a participação do receptor para LDL oxidada semelhante à lecitina (*Lectin-like oxidized LDL receptor-1* - LOX-1). Este receptor foi identificado nos macrófagos, sendo considerado um receptor *scavenger* para a LDL modificada. Este receptor apresenta-se na forma de glicoproteína de membrana e é encontrado também nas células endoteliais e musculares lisas. Mediadores de inflamação, como as citocinas, aumentam a expressão de LOX-1 no endotélio, sugerindo assim, uma ligação com a doença aterosclerótica (CHEN et al., 2002). Portanto, o potencial papel da LDL<sup>-</sup> na inflamação e na expressão do LOX-1 reforça a sua participação no processo aterosclerótico.

Tem sido demonstrado que a LDL<sup>-</sup> apresenta propriedades pró-inflamatórias evidenciadas pela presença de interleucina 8 (IL-8) e MCP-1 nas células endoteliais, tanto em indivíduos dislipidêmicos, quanto àqueles saudáveis ou com outros fatores de risco para doença cardiovascular (SÁNCHEZ-QUESADA et al., 2004). Portanto, o conteúdo de LDL<sup>-</sup> pode ser potencialmente utilizado como um parâmetro oxidativo para estimar a progressão da inflamação associada à aterosclerose (SEVANI et al., 1999).

Considerando-se que as modificações oxidativas das sub-frações mais aterogênicas da LDL podem apresentar associação com a evolução das dislipidemias, foi que BENÍTEZ et al. (2004) avaliaram o efeito da sinvastatina na formação da LDL<sup>-</sup>. Estes autores observaram que esta estatina não apenas teve ação hipocolesterolêmica, mas também modificou as características qualitativas da partícula de LDL, levando ao aumento relativo da Apo B na LDL nativa, diminuição progressiva da proporção de LDL<sup>-</sup>, aumento da afinidade da LDL<sup>-</sup> pelo receptor de LDL e diminuição de colesterol e triacilgliceróis na LDL<sup>-</sup>. Neste mesmo ano, PEREIRA et al. (2004) demonstraram que a intervenção com o  $\alpha$ -tocoferol associado à terapia com sinvastatina, promoveu redução de 33% na concentração de  $\alpha$ -tocoferol, provavelmente devido à diminuição das partículas de LDL, que são as principais transportadoras desta vitamina no plasma. Apesar destas observações, estes

pacientes não tiveram diferença significativa na redução de LDL<sup>c</sup>, quando comparados com os pacientes submetidos à terapia exclusiva de sinvastatina.

A injúria à parede da artéria pode estimular a proliferação de fibroblastos, diminuindo a capacidade funcional de tecidos e, assim, favorecer o início da aterosclerose (ROSS, 1999).

### 1.3 ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DA ATEROSCLEROSE

A aterosclerose é considerada uma doença baseada na resposta inflamatória crônica, resultante da interação entre lipoproteínas aterogênicas, tais como, LDL,  $\beta$ -VLDL e Lp(a), com componentes celulares (monócitos, macrófagos, linfócitos T, células endoteliais e células musculares lisas) e matriz extracelular (HANSSON, 1994; FAN e WATANABE, 2003; GOTTLIEB et al, 2005 e LIBBY, 2006). Segundo XAVIER et al. (2004), é uma doença multifatorial com características crônico-degenerativas, tendo a concentração de colesterol nas lipoproteínas importante contribuição na evolução do processo aterosclerótico. A disfunção endotelial induzida, principalmente, pela exposição do endotélio vascular à LDL oxidada é a primeira etapa na aterogênese (O'BRIEN e CHAIT, 1994).

A partir do dano vascular, diferentes mediadores inflamatórios são liberados no espaço subendotelial, onde os monócitos são diferenciados em macrófagos através de processos de maturação celular. Com a manutenção e/ou ampliação deste processo, ocorre, finalmente, a formação da placa aterosclerótica. Esta é constituída por elementos celulares (endotélio, musculatura lisa, fibroblastos e macrófagos), componentes da matriz extracelular e núcleo lipídico organizados, sob a forma estável ou instável. As placas estáveis caracterizam-se por predomínio de colágeno, compondo uma capa fibrosa espessa, escassas células inflamatórias e núcleo lipídico menos proeminente. As placas instáveis apresentam atividade proteolítica intensa, alta concentração de células inflamatórias, núcleo

lipídico relevante e capa fibrosa tênue. Tem sido sugerido que a ruptura das placas parece relacionar-se com as suas características morfológicas e bioquímicas, e não com o seu grau de estenose. Portanto, a placa estável está mais associada à oclusão arterial; enquanto a placa instável pode levar à síndrome coronariana aguda, relacionada ou não a eventos clínicos fatais (ROSS, 1999).

Neste sentido, novos marcadores de risco, relacionados ao metabolismo lipídico, aos fatores de coagulação e à inflamação, têm sido utilizados na detecção e monitoramento da evolução da aterosclerose. Eles evidenciam aqueles indivíduos que, aparentemente sem risco, desenvolvem eventos coronarianos. Entre os marcadores mais utilizados na clínica estão a Lp(a), as sub-classes da LDL pequenas e densas, a homocisteína, o fibrinogênio e a proteína C reativa (SBC, 2001).

Além dos marcadores acima, BRANDÃO et al. (2005) confirmaram a importância da HDL como fator protetor e a concentração da LDL, Lp(a) e triacilgliceróis como fatores agravantes na evolução da aterosclerose, comparando grupos de indivíduos saudáveis com portadores de doença arterial periférica (DAP).

As manifestações clínicas da aterosclerose, em geral, surgem a partir da meia-idade, porém, vários estudos demonstraram que o processo aterosclerótico tem início na infância e o ritmo de progressão está relacionado com a presença dos fatores de risco clássicos identificados no adulto, tais como obesidade, tabagismo, hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus, história familiar, idade e nível de atividade física (MCGILL et al., 2000).

#### 1.4 INFLAMAÇÃO E SISTEMA IMUNOLÓGICO NA ATEROSCLEROSE

Além dos aspectos crônicos, a aterosclerose é considerada uma doença imuno-inflamatória, na qual estão presentes monócitos, macrófagos e linfócitos T e B. A disfunção

endotelial, a elevação da expressão de MCP-1 e da proliferação de macrófagos, juntamente com a formação de auto-anticorpos são consideradas respostas inflamatórias e imunológicas da parede vascular à injúria (HANSSON, 1994; ROSS, 1999 e OHASHI et al., 2004). Os macrófagos, ao captarem a LDL modificada, estimulam a proliferação de linfócitos T *helper*, conduzindo assim a progressão da doença (HORKKO et al., 2000).

Estudos imunohistoquímicos demonstram que citocinas derivadas de diferentes células vasculares estão presentes em lesões ateroscleróticas em todas as etapas de seu desenvolvimento. Uma das principais citocinas derivadas dos linfócitos T é o interferon-gama (INF- $\gamma$ ), que tem demonstrado participar na formação de células espumosas, na proliferação de células musculares lisas e na regulação da produção de metaloproteinases, que influenciam na estabilidade do ateroma. Estas observações sugerem que as células imunocompetentes podem estar envolvidas na patogênese da aterosclerose (FAN e WATANABE, 2003).

As modificações sofridas pela LDL, mesmo que mínimas, transformam-na em uma partícula extremamente imunogênica e com características inflamatórias. Segundo SIQUEIRA et al. (2006), os ácidos graxos poliinsaturados da LDL, após sofrerem modificações oxidativas, ligam-se a resíduos de lisina na Apo B, gerando neo-epítomos antigênicos capazes de promover uma resposta auto-imune, com produção de anticorpos e formação de imunocomplexos.

Neste mesmo ano, em estudo realizado com crianças e adolescentes com história familiar de hipercolesterolemia, foi detectada a presença de menor concentração de auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup> no plasma, quando comparado com crianças descendentes de famílias saudáveis. Possivelmente, a elevada formação de LDL<sup>-</sup> poderia saturar os sítios de ligação do anticorpo anti-LDL<sup>-</sup>, formando imunocomplexos na circulação e, conseqüentemente, favorecendo a diminuição de anticorpos livres no sangue das crianças descendentes de famílias dislipidêmicas. Nesse sentido, a LDL<sup>-</sup>, os auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup> e os imunocomplexos com LDL<sup>-</sup> podem ser importantes marcadores para o diagnóstico sub-clínico de aterosclerose (BARROS et al., 2006).

Portanto, embora a origem da LDL<sup>c</sup> e sua relevância no processo aterosclerótico ainda sejam alvos de muitas investigações, os estudos já realizados demonstram não só a sua intensa participação neste processo fisiopatológico, mas também indicam que esta partícula é passível de modulação exógena (farmacológica e estilo de vida).

## 1.5 PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS

Entre os fatores de risco de maior probabilidade para o desenvolvimento da doença arterial coronariana (DAC) estabelecidos desde o estudo de FRAMINGHAN, destacam-se o fumo, a HAS, as dislipidemias, o diabetes mellitus, a obesidade e a inatividade física (GRUNDY, 1998). Da mesma forma, a SBC tem destacado a fundamental importância da obesidade abdominal, da dieta e do sedentarismo no risco cardiovascular (SBC, 2001).

Segundo alguns estudos, o uso da antropometria para o acompanhamento dos fatores de risco das doenças crônicas é extremamente importante. Além do índice de massa corporal (IMC), recomenda-se também a medida da circunferência da cintura, que tem mostrado boa correlação com a deposição da gordura abdominal, e por apresentar associação com diversas desordens metabólicas, tais como diabetes mellitus, HAS e dislipidemias. Esses parâmetros físicos têm a vantagem de apresentar fácil mensuração e baixo custo, podendo ser utilizado tanto na saúde pública, como na prática clínica (OMS, 2000 e SOWERS, 2003).

No Brasil, avaliou-se, através da circunferência da cintura e diagnóstico de sobrepeso ou obesidade, a predição de hipertensão arterial sistêmica, em mulheres com idade entre 15 e 59 anos. Tanto a circunferência da cintura, quanto à relação entre a circunferência da cintura e do quadril mostraram correlação positiva com HAS, sobrepeso e obesidade, sendo os melhores resultados obtidos, quando se analisou a circunferência da cintura isolada (VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, 2002).



YANO et al. (2004) verificaram, em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2, correlação positiva entre a geração de LDL<sup>-</sup> e o IMC, assim como com a concentração de colesterol total, triacilgliceróis, glicemia de jejum e pressão arterial sistólica. Estes resultados indicaram que a LDL modificada em diabéticos tem relação direta com os fatores de risco tradicionais para doença arterial coronariana.

Posteriormente, WEINBRENNER et al. (2006) observaram relação direta entre obesidade abdominal, medida pela circunferência da cintura, com marcadores de estresse oxidativo e inflamação (LDL oxidada e proteína C reativa), independentemente da concentração de triacilgliceróis e colesterol associado à LDL e HDL, diagnóstico de diabetes mellitus e IMC.

Recentemente, LINNA et al. (2007) encontraram que as modificações antropométricas também atuam modulando a oxidabilidade das lipoproteínas. De acordo com estes autores, a redução de 14% do peso, resultante do consumo de dieta hipocalórica durante 2 meses, proporcionou um decréscimo de 22% na concentração de LDLox em homens obesos. Entretanto, a não manutenção do peso, durante um período de 2 anos, favoreceu um aumento de 39% na concentração de LDLox. Em adição, a redução de LDLox foi associada com a diminuição de triacilgliceróis totais e aumento do colesterol associado à HDL, favorecendo o controle do risco de DAC.

Portanto, a avaliação do estado nutricional é de grande importância para o estabelecimento de estratégias de intervenção que visem à prevenção de doenças cardiovasculares, uma vez que os marcadores antropométricos podem ser modificados com a adoção de estilo de vida saudável e controle do peso corporal (CASTRO, 2004).

## 1.6 NUTRIÇÃO E DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Além dos aspectos bioquímicos e antropométricos associados à aterosclerose, tem sido demonstrado que fatores nutricionais podem reduzir ou estimular a susceptibilidade oxidativa das lipoproteínas e, conseqüentemente, o processo aterosclerótico (FINKING, 1997 e BOTELHO et al., 2004).

Atualmente, é aceito que uma dieta rica em antioxidantes previne o estresse oxidativo pós-prandial e reduz a formação e absorção de peróxidos e seus produtos de decomposição. Ao contrário, uma dieta rica em lipídeos promove aumento da geração de triacilgliceróis e LDL no plasma, na fase pós-prandial (URSINI e SEVANI, 2002). Portanto, os componentes da dieta são fundamentais na modulação do estresse oxidativo, determinando o papel da Nutrição na modificação do risco de aterosclerose.

Embora estudos epidemiológicos demonstrem que o baixo consumo de gorduras está associado à reduzida concentração de colesterol plasmático e menor incidência de DAC, o tipo de gordura consumida merece destaque. Os ácidos graxos saturados, com exceção do esteárico, aumentam os níveis séricos de lipoproteínas, principalmente a LDL, por reduzirem a síntese e a atividade do receptor B/E. Como conseqüência, a elevação da LDL plasmática favorece o depósito lipídico nas paredes dos vasos, levando ao desenvolvimento de placas de aterosclerose (SCHAEFER, 2002).

Segundo BROWN (2001), uma dieta rica em ácidos graxos  $\omega$ -3 e antioxidantes promove redução da inflamação sistêmica e da disfunção endotelial, atuando como agente protetor da doença arterial coronariana.

A proteína C reativa (PCR), interleucina-6 (IL-6), E-selectinas, ICAM-1 e VCAM-1 são marcadores inflamatórios e de disfunção endotelial que estão intimamente relacionados com doença coronariana. O consumo elevado de ácidos graxos saturados e ácidos graxos *trans*, e a baixa ingestão de ácidos graxos poliinsaturados e monoinsaturados favorecem o

aumento da concentração destes marcadores, podendo contribuir para ampliar o risco cardiovascular, conforme observado por LOPEZ-GARCIA et al., (2004).

Em estudos realizados por DAMASCENO et al. (2000; 2001; 2007) verificou-se que componentes da dieta de origem não lipídica também atuam na modulação do perfil lipídico e oxidativo. Tais eventos foram associados com o consumo da proteína isolada da soja e das isoflavonas (ação hipocolesterolêmica e anti-aterogênica) e da caseína (ação hipercolesterolêmica e aterogênica).

Segundo DAMASCENO (2000), o consumo de uma dieta hipercolesterolêmica e rica em caseína por coelhos, provocou aumento do tamanho da lesão aterosclerótica na aorta, em comparação ao grupo que recebeu dieta hipercolesterolêmica contendo proteína isolada da soja. Esta diferença pode estar associada ao aumento na geração de LDLox e de auto-anticorpos anti-LDL oxidada observado no grupo alimentado com caseína.

Posteriormente, LOTTENBERG et al. (2002), avaliando o efeito do consumo de margarina enriquecida com ésteres de fitoesteróis (3,0 g/dia), encontraram redução de 10% na concentração de colesterol total e 12% de colesterol associado à LDL, em indivíduos hipercolesterolêmicos; sendo que, os indivíduos que tinham LDL > 200,0 mg/dL apresentaram os melhores resultados. Na prática, estes indivíduos representam os que se submetem ao uso de medicamentos hipolipemiantes.

Dando seqüência ao estudo acima, DAMASCENO (comunicação pessoal) avaliou, nesta mesma população, o possível efeito modulador dos fitoesteróis sobre a geração de LDL<sup>o</sup> e seus auto-anticorpos. Os resultados indicaram que estes componentes dietéticos promoveram diminuição dos auto-anticorpos anti-LDL<sup>o</sup>, mas não alteraram o conteúdo de LDL<sup>o</sup> no plasma.

Além da ação dos nutrientes sobre o processo aterosclerótico, o fumo tem demonstrado aumentar o nível de peroxidação lipídica tanto no plasma, quanto na LDL, possivelmente por aumentar a susceptibilidade oxidativa da LDL (SANDERSON et al.,

1995). Segundo SÁNCHEZ-QUESADA (1996), os fumantes possuem maior concentração plasmática de triacilgliceróis e baixos valores de HDL. Em adição, os mesmos autores encontraram menores concentrações de  $\alpha$ -tocoferol,  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno na LDL, indicando um efeito negativo do fumo sobre os antioxidantes associados à LDL, favorecendo uma maior concentração de LDL<sup>-</sup> no plasma. Em estudo posterior, KLIPSTEIN-GROBUSCH et al. (1999) avaliando a associação entre  $\beta$ -caroteno, vitamina C e  $\alpha$ -tocoferol com risco de DAC em homens e mulheres, verificaram associação inversa entre o consumo de  $\beta$ -caroteno e risco de infarto agudo do miocárdio, incluindo os indivíduos não fumantes.

De acordo com PISAVOS (2005), a aderência à dieta padrão do Mediterrâneo está associada com a baixa concentração plasmática de LDLox e elevado nível de capacidade antioxidante total; esta última, sendo uma importante ferramenta usada na determinação do prognóstico clínico de várias doenças, incluindo aterosclerose e câncer.

Embora diversos estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* demonstrem que as modificações oxidativas das lipoproteínas possam ser moduladas por medicamentos e componentes alimentares; esta última relação não é facilmente estabelecida nos estudos de epidemiologia nutricional, uma vez que a alimentação diária é complexa, contendo diversos alimentos e nutrientes. Em paralelo, estudos envolvendo o papel modulador dos ácidos graxos, fibras alimentares, antioxidantes e proteínas como potenciais ferramentas para a modulação da formação da LDL<sup>-</sup> são escassos e ainda não conclusivos. Deste modo, a avaliação do impacto da alimentação na geração dessa partícula ainda é alvo de investigação.

Portanto, com a realização deste estudo pretende-se identificar possíveis perfis alimentares (nutricionais e antropométricos) que mantenham associação com a geração da lipoproteína de baixa densidade eletronegativa (LDL<sup>-</sup>) em indivíduos com diferentes níveis de risco cardiovascular.

## **2. JUSTIFICATIVA**

Considerando que as doenças cardiovasculares representam uma importante causa de hospitalização e morte nos países Ocidentais, tanto desenvolvidos, quanto em desenvolvimento; estas afecções e, sobretudo, a aterosclerose constituem um grave problema de Saúde Pública ao nível mundial.

Atualmente, o papel dos processos oxidativos na patogênese da aterosclerose está bem definido, sendo sua modulação através de mudanças no estilo de vida associadas ou não ao uso de fármacos bastante investigado. Neste ponto, merece destaque a participação dos componentes da dieta, cujos estudos indicam que tanto podem ter ação na prevenção e no tratamento das dislipidemias e, conseqüentemente, da aterosclerose, quanto podem agir em sinergia com alguns fatores de risco cardiovascular, agravando o prognóstico da aterosclerose.

Embora a origem e os mecanismos de ação associados à LDL<sup>-</sup> ainda sejam alvo de investigações, sua participação em processos que variam desde a disfunção endotelial até a ruptura da lesão de aterosclerose é ativa e silenciosa. Considerando que ferramentas exógenas podem alterar a oxidabilidade das lipoproteínas, é provável que a geração da LDL<sup>-</sup> possa ser modificada pela adoção de hábitos de vida saudáveis, como dieta equilibrada, manutenção do peso corporal e controle do perfil lipídico.

Portanto, assumindo que a elevação na geração de LDL<sup>-</sup> e seus auto-anticorpos estejam associados à DAC, este estudo pretende avaliar o possível efeito do perfil nutricional (dietético e antropométrico) e lipídico sobre a geração destes marcadores bioquímicos.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 GERAL**

Identificar a possível influência dos parâmetros nutricionais e bioquímicos sobre a geração de LDL<sup>-</sup> em indivíduos com diferentes níveis de risco cardiovascular.

#### **3.2 ESPECÍFICOS**

Para a consecução do objetivo geral, os seguintes objetivos específicos foram propostos:

- a. Estratificar o risco cardiovascular dos indivíduos inclusos no estudo;
- b. Avaliar o consumo alimentar habitual;
- c. Avaliar o perfil antropométrico (índice de massa corporal e circunferência da cintura) e a composição corporal (porcentuais de gordura e massa magra);
- d. Determinar a concentração de colesterol, triacilgliceróis e proteínas no plasma, nas lipoproteínas (VLDL, LDL e HDL) e nas sub-frações de LDL (mais densa e menos densa);
- e. Detectar a LDL<sup>-</sup> no plasma, na LDL total e nas sub-frações de LDL (mais densa e menos densa);
- f. Detectar os auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup> no plasma.

## 4. METODOLOGIAS

### 4.1 CASUÍSTICA

A população do estudo foi composta por indivíduos de ambos os sexos, com idade entre 25 e 65 anos, que foram divididos em três grupos: **Controle**: formado por indivíduos normolipidêmicos; **Hipercolesterolêmico [Hiper (-)]**: formado por indivíduos com hipercolesterolemia associada à LDL e; **Hipercolesterolêmicos com Aterosclerose [Hiper (+)]**: formado por indivíduos com hipercolesterolemia associada à LDL e aterosclerose clinicamente diagnosticada.

Os indivíduos incluídos neste estudo foram recrutados do Ambulatório de Dislipidemia do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas – InCor-HCFM/USP (São Paulo, São Paulo), dos Ambulatórios de Clínica Geral e Doenças Metabólicas do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo – HU/USP (São Paulo, São Paulo) e do Ambulatório de Doenças Cardiovasculares do Hospital de Messejana (Fortaleza, Ceará) durante o período de agosto/2005 à setembro/2006. Todos os participantes passaram pelo processo de esclarecimento, após o qual assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme **Anexo 1**. Todos os procedimentos de obtenção de amostras, análises e divulgação dos resultados seguiram as normas do Conselho Nacional de Saúde, no que se refere à ética em pesquisa com seres humanos (BRASIL, 1996).

#### 4.1.1 Tamanho da Amostra

O poder e tamanho da amostra foram calculados através da Análise de Variância (ANOVA) com a adição de efeitos aleatórios, pois consideramos que a LDL<sup>-</sup> apresenta variabilidade inter pessoal.

O poder estabelecido nos cálculos foi de 90%, o efeito da média da raiz quadrada do erro padrão foi igual a 1 e  $\alpha$  igual a 5%, resultando num tamanho amostral de 29 indivíduos em cada grupo de estudo.

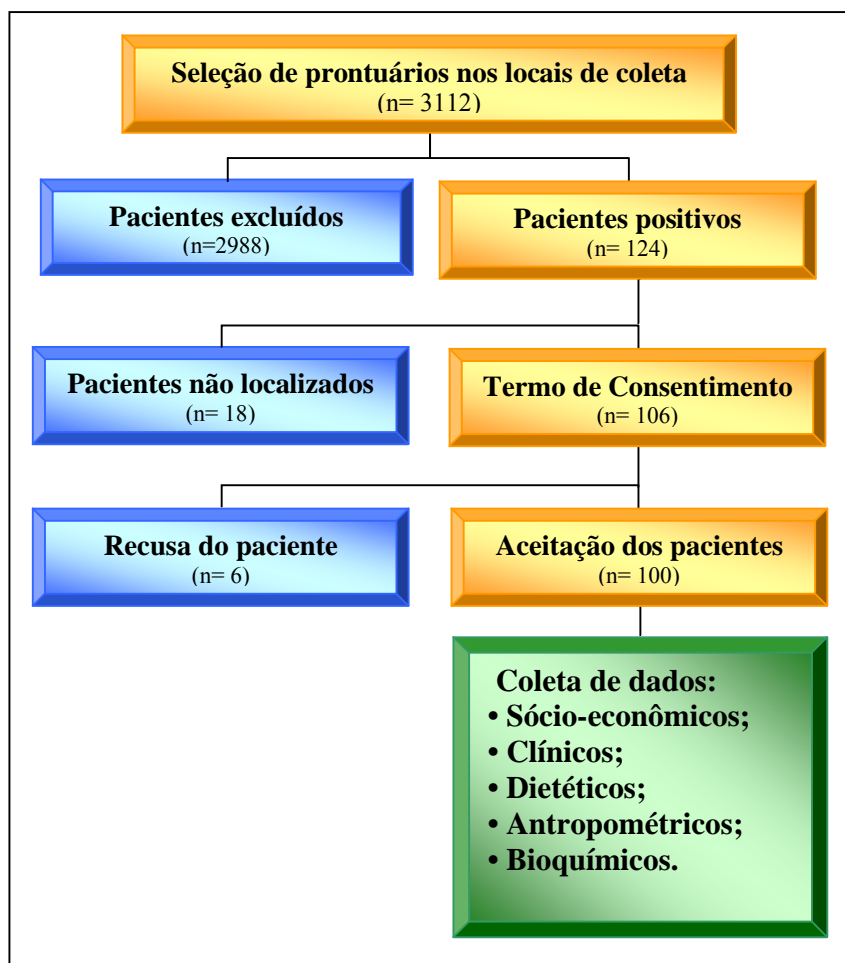
## 4.2 DELINEAMENTO CLÍNICO DO ESTUDO

Este estudo é do tipo Caso-controle, segundo definição proposta por FLETCHER et al. (2003), pois se trata de uma investigação retrospectiva das causas da doença estudada, entre pessoas escolhidas porque têm a doença (Casos) e pessoas comparáveis que não possuem esta doença (Controle).

A seleção dos indivíduos ocorreu, inicialmente, através da pesquisa de prontuários. Após identificação de pessoas com características positivas para este estudo, as mesmas foram convidadas por meio de abordagem direta ou indireta (via telefone). Para aqueles que conseguimos contato, apresentamos o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Neste sentido, foram pesquisados 3112 prontuários, sendo selecionados 100 pacientes para a coleta de dados, conforme apresentado na **Figura 2**.



**Figura 2:** Protocolo de coleta de dados.



### 4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

#### 4.3.1 Grupo Controle

- Normolipidêmico (segundo IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da SBC, 2007);

- Não ter aterosclerose, segundo Índice Tornozelo-Braço (GREENLAND et al., 2000), associado às informações de prontuário;
- Clinicamente saudável;
- Não fumar (foram excluídos do estudo aqueles indivíduos que apresentaram o hábito de fumar, não importando o número de cigarros/dia);
- Sem uso freqüente de álcool (consumo  $\leq 30,0$  mL de etanol/dia para homens e  $\leq 15,0$  mL de etanol/dia para mulheres, segundo IV Diretrizes Brasileira de Hipertensão da SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO - SBH, 2004);
- Sem uso de medicamentos moduladores do metabolismo lipídico e antioxidantes há pelos menos 2 meses;
- Não apresentar hipertensão (segundo IV Diretrizes Brasileira de Hipertensão, da SBH, 2004);
- Não apresentar diabetes mellitus (glicemia de jejum  $< 126,0$  mg/dL, comprovada por exame bioquímico, segundo Consenso Brasileiro sobre Diabetes da SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES - SBD, 2003);
- Pode estar na menopausa, mas com ausência de terapia de reposição hormonal.

#### 4.3.2 Grupo Hiper (-)

- Ter hipercolesterolemia (LDL-c  $\geq 160,0$  mg/dL);
- Não ter aterosclerose, segundo Índice Tornozelo-Braço (GREENLAND et al., 2000), associado às informações de prontuário;
- Não fumar (foram excluídos do estudo aqueles indivíduos que apresentaram o hábito de fumar, não importando o número de cigarros/dia);
- Sem uso freqüente de álcool (consumo  $\leq 30,0$  mL de etanol/dia para homens e  $\leq 15,0$  mL de etanol/dia para mulheres, segundo IV Diretrizes Brasileira de Hipertensão da SBH, 2004);
- Sem uso de medicamentos moduladores do metabolismo lipídico e antioxidantes há pelo menos 2 meses;

- Não apresentar hipertensão (segundo IV Diretrizes Brasileira de Hipertensão da SBH, 2004);
- Não apresentar diabetes mellitus (glicemia de jejum < 126,0 mg/dL, comprovada por exame bioquímico, segundo Consenso Brasileiro sobre Diabetes da SBD, 2003);
- Pode estar na menopausa, mas com ausência de terapia de reposição hormonal.

#### 4.3.3 Grupo Hiper (+)

- Ter hipercolesterolemia (LDL-c  $\geq$  160,0 mg/dL);
- Apresentar aterosclerose, segundo Índice Tornozelo-Braço (GREENLAND et al., 2000) e/ou informações de prontuário;
- Não fumar (foram excluídos do estudo aqueles indivíduos que apresentam o hábito de fumar, não importando o número de cigarros/dia);
- Sem uso freqüente de álcool (consumo  $\leq$  30,0 mL de etanol/dia para homens, e  $\leq$  15,0 mL de etanol/dia para mulheres, segundo IV Diretrizes Brasileira de Hipertensão da SBH, 2004);
- Sem uso de medicamentos moduladores do metabolismo lipídico e antioxidantes há pelo menos 2 meses;
- Pode apresentar hipertensão, porém no máximo classificada como estágio leve, ou pressão arterial sistêmica controlada por medicamento (pressão arterial sistólica  $\leq$  15,9 mmHg e pressão arterial diastólica  $\leq$  9,9 mmHg, segundo IV Diretrizes Brasileira de Hipertensão da SBH, 2004);
- Não apresentar diabetes mellitus (glicemia de jejum < 126,0 mg/dL, comprovada por exame bioquímico, segundo Consenso Brasileiro sobre Diabetes da SBD, 2003);
- Pode estar na menopausa, mas com ausência de terapia de reposição hormonal.

#### 4.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Pacientes que preencheram algum dos critérios abaixo não participaram do estudo:

- Indivíduos com idade inferior a 25 anos e superior a 65 anos;
- Concentração de triacilgliceróis  $\geq 400$  mg/dL;
- Fumantes (foram excluídos do estudo aqueles indivíduos que apresentaram o hábito de fumar, não importando o número de cigarros/dia);
- Uso freqüente de álcool (consumo  $> 30,0$  mL de etanol/dia para homens e  $> 15,0$  mL de etanol/dia para mulheres, segundo IV Diretrizes Brasileira de Hipertensão da SBH, 2004);
- Indivíduos usuários de medicamentos que modificam o metabolismo de lipídeos, nos últimos dois meses;
- Usuários de hormônio;
- Usuários de suplementos antioxidantes;
- Hepatopatas;
- Diabéticos;
- Hipertensos moderados e graves;
- Mulheres em tratamento com reposição hormonal;
- Hipotireoidismo não compensado;
- Insuficiência renal crônica;
- Atresia biliar;
- Doenças auto-imune;
- Indivíduos com obesidade grau II ou III.

A exclusão e inclusão de pacientes neste estudo foi baseada no registro de prontuário, no questionário de Identificação e Avaliação Sócio-Econômica, Cultural e de Saúde do Paciente (**Anexo 2**) e na análise bioquímica. Todos os procedimentos de obtenção de informações e/ou amostras foram previamente esclarecidos a cada indivíduo.

#### 4.5 ANÁLISE DE RISCOS E BENEFÍCIOS

A pesquisa teve caráter de diagnóstico e não de intervenção. Portanto, o risco foi considerado mínimo. Os benefícios resultantes da realização deste estudo basearam-se na identificação de hábitos alimentares e parâmetros antropométricos associados ao risco cardiovascular em indivíduos hipercolesterolêmicos com ou sem aterosclerose. Neste contexto, os benefícios para a população incluída no estudo ainda são experimentais, mas visualizam a identificação de perfis nutricionais mais saudáveis para a população em geral. Todos os resultados foram entregues aos participantes do estudo, sendo que orientações específicas (sugestão para procurar um profissional médico e/ou nutricionista) foram dadas quando estes resultados indicaram risco à saúde destes indivíduos.

#### 4.6 AVALIAÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA

Aos participantes do projeto foi aplicado um Formulário de Identificação e Avaliação Sócio-Econômica, Cultural e de Saúde do Paciente (**Anexo 2**), com questões sobre idade, etnia, estado civil, escolaridade, renda familiar, história clínica, história familiar e uso de medicamentos, de modo que a caracterização dos grupos estudados fosse realizada.

As faixas de classificação Sócio-Econômica e Cultural apresentadas no **Anexo 2** foram baseadas em parâmetros previamente estabelecidos pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2002).

#### 4.7 ESTRATIFICAÇÃO DE RISCO PARA DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA

A classificação de risco para doença arterial coronariana (DAC) foi realizada através da investigação do prontuário e entrevista direta com perguntas sobre manifestações clínicas da doença aterosclerótica ou de seus equivalentes, conforme critérios apresentados no **Anexo 3**.

Nos indivíduos sem doença aterosclerótica significativa, utilizamos a somatória dos Escores de Risco de *Framingham* – ERF (**Anexo 4**), que calcula o risco absoluto de eventos coronarianos em 10 anos, segundo o sexo (KANNEL et al., 2000). Foram atribuídos pontos para idade, pressão arterial sistólica, colesterol total, HDL-c e estado de tabagismo. A classificação de risco para DAC foi baseada na IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (SBC, 2007) (**Anexo 5**).

Portanto, a utilização dos critérios descritos acima permitiu identificar com maior exatidão a categoria de risco dos indivíduos inclusos neste estudo.

#### 4.8 AVALIAÇÃO DO ÍNDICE TORNOZELO-BRAÇO

O critério para diagnóstico sub-clínico de aterosclerose foi obtido através de um Doppler de vascularização periférica, portátil e sem registro gráfico (Medpej<sup>®</sup>, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil), que identifica e quantifica o fluxo sanguíneo. Estabelecemos a relação entre a Pressão Arterial dos Membros Inferiores (PA MMII) e dos Membros Superiores (PA MMSS) gerando uma razão chamada índice tornozelo-braço (ITB) ou índice de revascularização. Este índice foi obtido ao dividirmos a pressão arterial sistólica aferida numa das três artérias da perna (tibial anterior, tibial posterior ou peroneira) pela pressão arterial sistólica encontrada nos membros superiores. Utilizando-se do efeito Doppler, ao colocarmos o “probe” sobre a área de projeção da artéria a ser estudada, escutamos um som trifásico, bifásico ou monofásico, em função do grau de resistência periférica e da qualidade da parede arterial. O cálculo foi feito separadamente para cada perna, sendo considerada a maior leitura. Um ITB < 0,90 em cada perna indicou doença

arterial periférica. Quanto menor o valor, mais severa é a obstrução, segundo GREENLAND et al. (2000).

Este exame foi selecionado devido ao baixo custo e por ser um indicador rápido e de fácil aplicação, utilizado no diagnóstico de doença arterial periférica.

Além da realização do ITB, foram considerados também portadores de doença aterosclerótica os indivíduos cujos prontuários apresentaram pelo menos um dos seguintes exames: eletrocardiograma com sugestão de isquemia, tomografia computadorizada da carótida, cintilografia do miocárdio, cinecoronariografia com lesão, angiografia coronariana ou teste ergométrico. O resultado positivo de pelo menos um dos critérios de diagnóstico de aterosclerose baseado em prontuário ou ITB  $< 0,90$  permitiu a inclusão deste indivíduo no grupo Hiper (+).

#### 4.9 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR

A avaliação dos hábitos alimentares foi realizada através de um Questionário Quantitativo de Frequência Alimentar – QQFA (**Anexo 6**). Esta ferramenta de inquérito nutricional baseou-se no QQFA com reprodutibilidade e validade testadas previamente em imigrantes japoneses de Bauru (São Paulo, Brasil) por CARDOSO et al. (2001), e foi utilizada após a exclusão de alimentos de origem japonesa e adição de alguns alimentos e preparações habituais da nossa população (**Anexo 7**). A aplicação deste QQFA foi realizada através de entrevista direta, com o auxílio de um registro fotográfico alimentar (ZABOTTO et al., 1996), por entrevistador treinado de acordo com manual elaborado exclusivamente para este fim (**Anexo 8**).

Para avaliar o consumo de calorias e nutrientes obtidos a partir do QQFA, utilizamos o programa *Dietsys*<sup>®</sup> versão 4.0 (HHHQ – *Dietsys Analysis Software*, 1999). A composição nutricional de todos os alimentos ou preparações do QQFA foi adicionada ao

programa através das tabelas de TOMITA e CARDOSO (2000), PINHEIRO et al. (2001), PHILLIPI (2002), Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO (2004), *Nutrient Database for Standard Reference Release* - USDA (2005) e Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – Projeto Integrado de Composição de Alimentos Brasilfoods - TBCAUSP (2005) e informações nutricionais obtidas dos rótulos de alimentos, quando se tratavam de marcas específicas.

Além da análise do consumo dos nutrientes brutos obtidos pelo QQFA, foi realizado o ajuste dos nutrientes pela energia, segundo método residual, proposto por MACKERRAS (1996) e WILLETT e STAMPFER (1998). Essa técnica elimina a influência das calorias no consumo de nutrientes, sendo a energia considerada variável independente e os nutrientes variáveis dependentes. Segundo os autores acima, o “nutriente ajustado” representa o valor do nutriente ingerido não correlacionado com a energia total consumida. Portanto, esse procedimento de ajuste isola a ingestão do nutriente da ingestão total de energia.

#### 4.10 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Para a avaliação antropométrica foram aferidos peso (Kg), altura (m), circunferência da cintura (cm) e dados de composição corporal (porcentuais de massa gorda e massa magra).

O peso foi determinado com os indivíduos utilizando o mínimo de roupas e descalços, através da balança digital Control II<sup>®</sup> (Plenna, São Paulo, Brasil) com limite de capacidade de 150,0 Kg e precisão de 100,0 g. A medida de altura foi determinada através do estadiômetro portátil Alturaexata<sup>®</sup> (TBW, São Paulo, Brasil) com limite de 2,1 m e precisão de 1,0 mm, onde os indivíduos estavam descalços, em posição ereta, com os pés paralelos, calcanhares, panturrilha, glúteos, ombros e cabeça encostados no estadiômetro, com a cabeça sob o plano horizontal de *Frankfurt*. Estes dados foram utilizados para cálculo do índice de massa corporal (IMC), definido como peso corporal em quilos dividido



pela estatura em metros quadrados ( $\text{Kg/m}^2$ ). A partir do IMC, os indivíduos foram classificados de acordo com os critérios propostos pela OMS (2000), conforme **Quadro 1**.

**Quadro 1:** Valores de referência para índice de massa corporal (IMC).

IMC ( $\text{Kg/m}^2$ )	Classificação
< 18,5	Baixo peso
18,5 – 24,9	Eutróficos
25,0 – 29,9	Pré-obesos
30,0 – 34,9	Obesidade grau I
35,0 – 39,9	Obesidade grau II
$\geq 40,0$	Obesidade III

Fonte: Organização Mundial da Saúde - OMS (2000)

Utilizando uma fita inelástica, flexível, com precisão 1,0 mm (TBW, São Paulo, Brasil), coletamos a medida de circunferência da cintura, sendo o ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca utilizado como referência anatômica. O indivíduo foi orientado a permanecer com o abdômen relaxado, ficar em pé, manter os braços paralelos ao corpo e pés unidos. Os valores de referência para circunferência da cintura foram classificados, segundo a definição de obesidade abdominal estabelecida pela *International Diabetes Federation* – IDF (2006), onde há pontos de cortes para cada grupo étnico e sexo. Os valores de referência para as diferentes populações estão descritos na **Quadro 2**, sendo que os valores adotados no presente estudo foram relacionados à população branca de origem européia e negros.

**Quadro 2:** Valores de referência de circunferência da cintura (CC) para classificação de obesidade abdominal

<b>Crítérios</b>	<b>Obesidade Abdominal (cm)</b>
<b>Homens</b>	
Branco de origem europeia e negro	≥ 94
Sul-asiáticos, ameríndios e chineses	≥ 90
Japoneses	≥ 85
<b>Mulher</b>	
Branca de origem europeia, negra, sul-asiáticas, ameríndias e chinesas	≥ 80
Japonesas	≥ 90

Fonte: *International Diabetes Federation – IDF (2006)*

Para a realização da impedância bioelétrica (BIA), foi utilizado o aparelho RJL Systems® (Detroit, USA), modelo BIA 101Q, tetrapolar, com apresentação digital dos valores de resistência (R) e reactância (Xc). O aparelho consta de dois cabos, onde cada cabo apresenta duas pinças de conexão, uma de cor vermelha e outra de cor preta. As pinças pretas foram conectadas nos eletrodos distais, localizados no pé e as pinças de cor vermelha foram conectadas nos eletrodos proximais, localizados na mão. As medidas de impedância bioelétrica foram tomadas do lado direito do paciente, que foi orientado a manter-se deitado em posição supina, com os braços em ângulo de 30° em relação ao seu corpo e as pernas sem contato entre si. Calçados e meias foram retirados e durante o teste o indivíduo permaneceu imóvel.

O cálculo do percentual de gordura corporal (%) e do percentual de massa magra (%) foi realizado através do programa *Cyprus*, versão 2.5 – *Body Composition Analysis System* (RJL Systems®, Detroit, USA), onde consideramos sexo, idade, peso, altura, nível de atividade física, resistência e reactância. Determinamos os valores normais de percentual de gordura corporal como sendo de 15-25 % nos homens e de 20-30 % nas mulheres adultas (ARMATRUDA, 2001).

#### 4.11 OBTENÇÃO DE SANGUE E LIPOPROTEÍNAS

A partir de cada indivíduo realizou-se uma coleta de sangue (20,0 mL) após o jejum de 12-15 horas. A coleta foi conduzida por profissional capacitado (técnico ou auxiliar de enfermagem) e em local reservado, equipado exclusivamente para este fim. Todo material necessário para a coleta de sangue foi utilizado pela primeira vez e teve seu descarte efetuado dentro das normas de segurança laboratorial. Todas as amostras foram usadas exclusivamente para os fins descritos neste estudo. O sangue foi coletado em tubos *vacutainer* contendo ácido etileno-diaminotetraacético-EDTA (1,0 mg/mL) (BD, Brasil), utilizado como anticoagulante e antioxidante, mantido em gelo e protegido da luz até a obtenção do plasma. Ao plasma (3000 rpm, 10 min, a 4°C) acrescentamos os seguintes inibidores de proteases: aprotinina (10,0 µg/mL), benzamidina (10,0 µM) e fluoreto de fenilmetilsulfonila-PMSF (5,0 µM), além do antioxidante 2,6-di-tert-butil-p-hidroxitolueno-BHT (100,0 µM). Todos os reagentes foram adquiridos da Sigma Chemical (St. Louis, MO, USA).

Todo o resíduo biológico não utilizado nos experimentos descritos foi descartado, segundo Normas de Segurança Laboratorial (OMS, 2004).

A partir do plasma, a lipoproteína de muito baixa densidade - VLDL ( $1,006 < d < 1,019$  g/mL), a lipoproteína de baixa densidade - LDL ( $1,020 < d < 1,063$  g/mL) e a lipoproteína de alta densidade - HDL ( $1,065 < d < 1,210$  g/mL) foram isoladas por ultracentrifugação seqüencial (40.000 rpm, 18 horas, a 4°C) (HAVEL et al., 1955), utilizando um rotor de ângulo fixo, modelo 50 Ti (Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, USA). As lipoproteínas isoladas foram dialisadas contra um tampão contendo 150,0 mM de cloreto de sódio, 1,0 mM de EDTA e 10,0 mM de trizma base, pH 7.4, durante 12 horas, a 4°C e armazenadas em temperaturas inferiores a -70°C até o momento da análise. Todos os reagentes foram adquiridos da Sigma Chemical (St. Louis, MO, USA).

#### 4.11.1 Obtenção da LDL mais densa e menos densa

A partir da LDL, foram obtidas por ultracentrifugação as sub-frações de LDL mais densa ( $K \geq 1,0$ ) e LDL menos densa ( $K < 1,0$ ). Entende-se por  $K = 1$ , o ponto de corte referente à densidade de 1,043 g/mL do *pool* de LDL (VAN DER VLEUTEN et al., 2005). Inicialmente, separamos 1,5 mL de LDL total dialisada, cuja densidade foi normalizada para 1,063g/mL e, em seguida, adicionamos em 2,0 mL de solução de KBr, com densidade de 1,043 g/mL ( $K=1$ ). Após o processo de ultracentrifugação (40.000 rpm, 18 horas, a 4° C), houve a separação das sub-frações de LDL, a mais densa e a menos densa. As sub-frações de LDL obtidas foram dialisadas e armazenadas, conforme descrito no item 4.11.

Tanto a etapa de obtenção das lipoproteínas a partir do plasma, quanto à obtenção das sub-frações de LDL foram realizadas no Laboratório de Lípidos (FM-USP) e no Laboratório de Imunofisiopatologia (ICB-USP), sob a coordenação da Profa. Marisa Passarelli e do Prof. Magnus Ake Gidlund, respectivamente.

#### 4.12 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE COLESTEROL E TRIACILGLICERÓIS

Um dos critérios para inclusão dos indivíduos no estudo teve por base a concentração de colesterol associado à LDL. Neste sentido, utilizamos a equação de FRIEDEWALD (1972), sendo a concentração de colesterol total, colesterol associado à HDL e triacilgliceróis plasmático determinada por meio dos kits comerciais Colesterol Liquiform<sup>®</sup>, Colesterol HDL<sup>®</sup> e Triglicérides Liquiform<sup>®</sup>, (Labtest, Minas Gerais, Brasil), respectivamente, com realização segundo as instruções do fabricante.

Como referência para a concentração de colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol e triacilgliceróis no plasma utilizou-se a classificação proposta pelas III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose (SBC, 2001), conforme apresentada no **Quadro 3**.

**Quadro 3:** Valores de referência de lipídeos para indivíduos com idade >20 anos.

<b>Lipídeos</b>	<b>Valores (mg/dL)</b>	<b>Classificação</b>
Colesterol Total	< 200	Ótimo
	200 – 239	Limítrofe
	≥ 240	Alto
LDL-c	<100	Ótimo
	100 – 129	Desejável
	130 – 159	Limítrofe
	160 – 189	Alto
	≥ 190	Muito Alto
HDL-c	< 40	Baixo
	> 60	Alto
Triacilgliceróis	< 150	Ótimo
	150 – 200	Limítrofe
	200 – 499	Alto
	≥ 500	Muito Alto

Fonte: Sociedade Brasileira de Cardiologia (2001).

Após inclusão dos indivíduos no estudo, as concentrações de colesterol (Kit Colesterol Liquiform<sup>®</sup>, Labtest, Minas Gerais, Brasil) e triacilgliceróis (Kit Triglicérides Liquiform<sup>®</sup>, Labtest, Minas Gerais, Brasil) nas frações lipoprotéicas (VLDL, LDL e HDL) e nas sub-frações de LDL (mais densa e menos densa) obtidas por ultracentrifugação também foram determinadas através de métodos enzimáticos colorimétricos, utilizando-se a aplicação manual dos reagentes comerciais descritos acima. Visando corrigir a diluição da amostra ocorrida no processo de ultracentrifugação para a obtenção das sub-frações de LDL (descrito no tópico 4.11.1), optamos por realizar a correção da concentração de colesterol, triacilgliceróis e LDL<sup>-</sup> a partir da determinação do fator de diluição. O cálculo deste fator teve por base a concentração de proteínas na LDL total.

#### 4.12.1 Determinação dos Índices de Castelli I e II

Além da análise da concentração de colesterol e triacilgliceróis no plasma e nas frações e sub-frações de LDL isoladas, também verificamos as relações entre o conteúdo de colesterol das lipoproteínas. O índice de Castelli I foi determinado como a razão entre o colesterol total e o HDL-c e o de Castelli II como a razão entre LDL-c e HDL-c (CASTELLI et al., 1983).

#### 4.12.2 Determinação do colesterol não associado à HDL

A avaliação do colesterol não associado à HDL foi baseada na subtração do HDL-c no colesterol total plasmático, que teve como finalidade melhorar a quantificação das lipoproteínas aterogênicas circulante.

#### 4.12.3 Determinação do porcentual de colesterol em relação aos lipídeos totais no plasma

No cálculo da concentração de colesterol em relação aos lipídeos plasmáticos, levamos em consideração que os lipídeos totais compreendem a somatória da concentração de colesterol e triacilgliceróis. Com isso, podemos verificar a relevância do colesterol no perfil lipídico total.

#### 4.13 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS

O conteúdo de proteínas totais nas frações lipoprotéicas (VLDL, LDL e HDL) e nas sub-frações de LDL (mais densa e menos densa) foi avaliado através do método de LOWRY (1951). Esta análise permitiu normalizar a concentração de colesterol e triacilgliceróis pelas proteínas no plasma e nas diversas frações, e determinar o fator de diluição das sub-frações de LDL.

#### 4.14 DETECÇÃO DE LDL<sup>-</sup>

A LDL<sup>-</sup> foi detectada no plasma, na LDL total, na LDL mais densa e na LDL menos densa através de ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) direto.

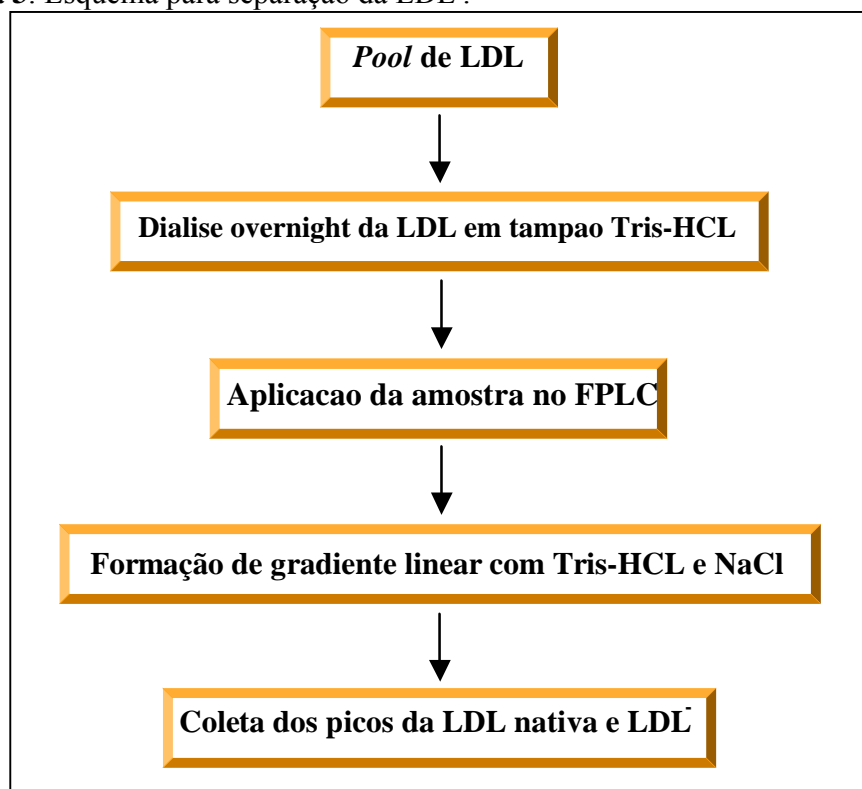
As placas (Costar<sup>®</sup>, modelo 3690, Corning, USA) foram sensibilizadas com plasma (1:12800), LDL total (1:800), LDL mais densa (1:10) e LDL menos densa (1:10), em triplicata e previamente diluídas em tampão carbonato-bicarbonato (0,25 M, pH 9,6), sendo incubadas 12h a 4°C. Após este período, os sítios livres foram bloqueados com leite desnatado (Molico<sup>®</sup>, Nestlé, São Paulo, Brasil), diluído a 5% em tampão fosfato salina 0,01 M (PBS - pH 7,4) e a placa incubada a 37°C por 2 horas. Em seguida, as placas foram lavadas quatro vezes com PBS-Tween (0,05%) (Fluka Chemie AG, São Paulo, Basil). Foi adicionado 50,0 µL/poço de MAb anti-LDL<sup>-</sup> (9,2 µg/mL) diluído em tampão PBS, sendo a placa incubada a 37°C por 2 horas. Após esta etapa, a placa foi lavada, conforme descrito acima, sendo adicionado 50,0 µL/poço de anti-IgG de mouse marcado com peroxidase (Rockland Immunochemicals for Research, Gilbertsville, PA, USA) diluído em leite desnatado 1% (1:5000). As placas foram incubadas a 37°C por 2 horas, em seguida, foram lavadas, conforme descrito acima. A reação de cor foi desenvolvida através da adição de

substrato composto por 3,3',5,5'-tetrametilbenzina (TMB), tampão citrato-fosfato (0,1 M, pH 4,2) e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%) (250/12/10, µL/mL/µL, respectivamente). As placas foram incubadas por 30 minutos em temperatura ambiente, sob proteção da luz. A reação foi bloqueada com 50µL/poço de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2,0 M) e a absorbância monitorada por leitor de placa (Spectra Count, Canberra Company, Meriden, CT) em 450 nm. Os resultados foram calculados pela média das absorbâncias das amostras menos a média do controle, sendo expressos em densidade óptica (DO) multiplicado pela diluição da amostra. Para os resultados referentes às sub-frações de LDL, realizamos o ajuste da diluição da amostra ocorrida na etapa de ultracentrifugação pela proteína da LDL total, conforme descrito 4.12.

#### 4.15 SEPARAÇÃO DE LDL<sup>-</sup>

A partir de doadores de sangue do Centro de Saúde Escola “Geraldo de Paula Souza” – FSP/USP obtivemos um *pool* de LDL através da técnica de ultracentrifugação seqüencial descrita no item 4.11. A etapa de identificação e purificação das sub-frações de LDL nativa e LDL<sup>-</sup> baseou-se na técnica de *Fast Protein Liquid Chromatography* (FPLC) de troca iônica, apresentada por SÁNCHEZ-QUESADA et al., (2002), sendo mostrada na **Figura 3** e descrita abaixo. Esta etapa do estudo foi realizada no Laboratório de Bioquímica Clínica, sob a coordenação da Profa. Dulcinéia Saes Parra Abdalla.



**Figura 3:** Esquema para separação da LDL<sup>-</sup>.

LDL: lipoproteína de baixa densidade, HCl: ácido clorídrico, FPLC: *Fast Protein Liquid Chromatography*, NaCl: cloreto de sódio, LDL<sup>-</sup>: lipoproteína de baixa densidade eletronegativa.

Após a etapa de diálise (tampão A - Tris-HCl 0,01M, pH 7,2, 4°C, 12h), a amostra foi normalizada para uma concentração final de 1,0 mg de proteína/mL de LDL e separadas por cromatografia de troca iônica, usando a coluna Uno Q 12 (Bio-Rad Inc., Hercules, CA, USA). A LDL nativa e a LDL<sup>-</sup> foram eluídas através de um gradiente linear formado pelo tampão A com o tampão B (NaCl 1,0 M + Tris-HCl 0,01M, pH 7,2), numa corrida de 45 min, fluxo de 1,0 mL/min e detector UV visível a 280 nm. Os picos foram coletados em tubos contendo 1,0 mM de EDTA, 5,0 µM de PMSF, 10,0 µM de benzamidina, 10,0 µg/mL de aprotinina e 100,0 µM de BHT, imersos em gelo e protegidos da luz. As lipoproteínas coletadas foram concentradas em Speed-Vac SC 110 (Savant Instruments Inc., Holbrook, NY, USA). A LDL<sup>-</sup> foi dialisada contra um tampão contendo 150,0 mM de cloreto de sódio, 1,0 mM de EDTA e 10,0 mM de trizma base, pH 7,4, durante 12 horas, a 4°C e armazenada a -70°C até o momento da análise. Todos os reagentes foram adquiridos da Sigma Chemical (St. Louis, MO, USA).

#### 4.16 DETECÇÃO DE AUTO-ANTICORPOS ANTI-LDL<sup>-</sup>

Os auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup> foram detectados através de ELISA de captura de anticorpo. Inicialmente, as placas foram sensibilizadas com LDL<sup>-</sup>, isolada por FPLC, previamente diluída em tampão carbonato-bicarbonato (0,25 M, pH 9,6) até a concentração final de 0,5 µg de proteína/poço, e incubada 12h a 4°C. Os espaços livres foram bloqueados com leite desnatado a 5% diluído em tampão fosfato-salina 0,01 M (PBS - pH 7,4) e incubados a 37°C por 2 horas. As placas foram lavadas quatro vezes com PBS-Tween (0,05%). As amostras de plasma, em triplicata, foram diluídas (1:400 à 1:6400) em PBS e incubadas a 37°C por 2 horas. As placas foram novamente lavadas, conforme descrito acima. Foi adicionado 50,0 µL/poço de anti-IgG humano marcado com peroxidase (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) (1:1000) diluído em PBS. As placas foram incubadas a 37°C por 1 hora e 30 minutos e, em seguida, lavadas, conforme descrito acima. A reação de cor foi desenvolvida através da adição de substrato composto por 3,3',5,5'-tetrametilbenzina (TMB), tampão citrato-fosfato (0,1M, pH 4,2) e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%) (250/12/10, µL/mL/µL, respectivamente). As placas foram incubadas por 30 minutos em temperatura ambiente, sob proteção da luz. A reação foi bloqueada com 50µL/poço de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2,0 M) e a absorbância monitorada por leitor de placa (Spectra Count, Canberra Company, Meriden, CT) em 450 nm. Os resultados foram determinados aplicando-se a média das absorbâncias das amostras menos o controle à equação da curva-padrão de IgG humana (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) (0,18 – 11,7 mg/mL), sendo expressos em Equivalentes de IgG humana anti-LDL<sup>-</sup>.

#### 4.17 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto foi analisado e aprovado pelos Comitês de Ética da Faculdade de Saúde Pública (FSP/USP), do Instituto do Coração (InCor-HCFM/USP), do Hospital Universitário

(HU/USP) e do Hospital de Messejana (Fortaleza – Ceará), conforme os protocolos apresentados no **Anexo 9**.

#### 4.18 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram apresentados sob a forma de média e desvio padrão em tabelas e gráficos. As análises bioquímicas foram conduzidas em triplicata. Todas as variáveis foram avaliadas com o auxílio do programa *Statistical Package for the Social Sciences*<sup>®</sup> (SPSS) versão 13.0 (SPSS INCORPORATION, 2000).

Para a determinação dos testes consideramos o tipo de distribuição das variáveis, através do teste *Kolmogorov-Smirnov* ( $p > 0,05$ ). Para as variáveis com distribuição normal utilizamos testes paramétricos e para as demais variáveis, testes não paramétrico.

O teste qui-quadrado foi utilizado para avaliar diferenças entre os grupos para as variáveis qualitativas (sexo, condições clínicas e metabólicas). Para o ERF, pressão arterial sistêmica, ITB, nutrientes brutos e ajustados, variáveis antropométricas e indicadores bioquímicos foram utilizados a análise de variância (ANOVA) e *Kruskal-Wallis*, a fim de avaliar as diferenças entre os grupos. A correlação entre as variáveis se deu através da correlação de *Pearson*, para as variáveis paramétricas ou de *Spearman*, para as não paramétricas.

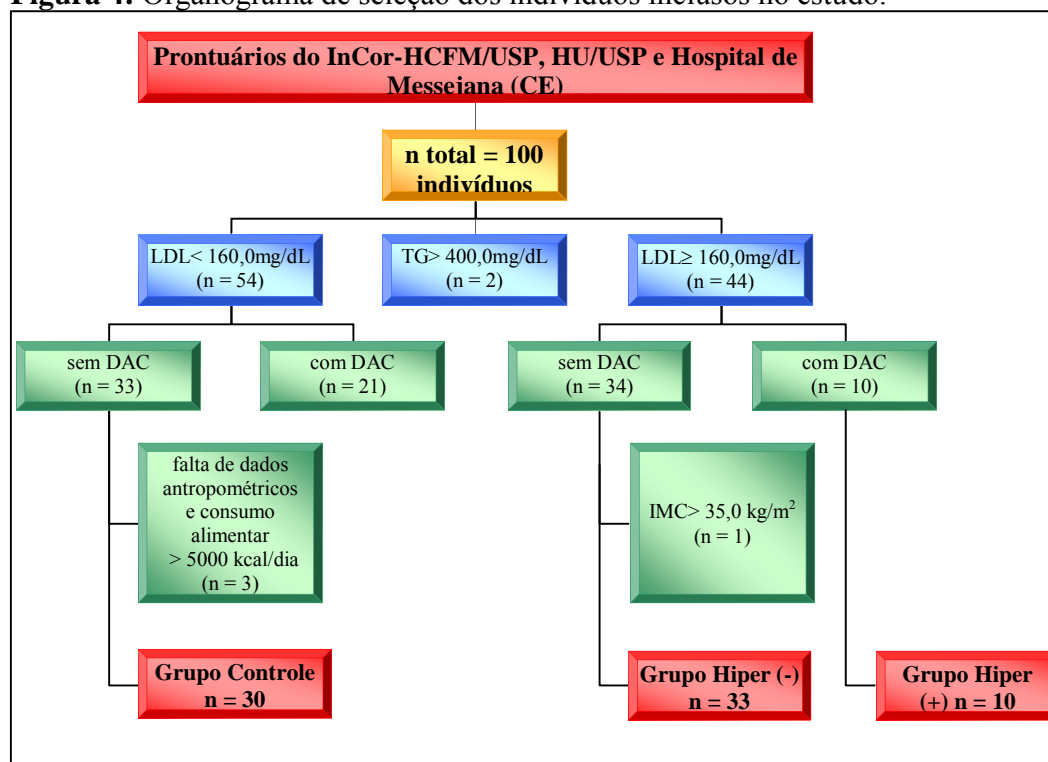
As análises estatísticas foram realizadas de forma bilateral (bi-caudal) e o valor de significância considerado para todos os testes foi de  $p < 0,05$ .

## 5. RESULTADOS

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

A partir da triagem inicial, foram selecionados 100 indivíduos para o presente estudo. Destes, 27 indivíduos (27,0%) foram excluídos por não atenderem aos critérios de inclusão estabelecidos para este estudo, conforme análises realizadas após coleta de dados. Dos 73 indivíduos elegíveis, 23 (32,0%) eram homens e 50 (68,0%) mulheres, com idade média de  $44,4 \pm 10,5$  anos. Os indivíduos foram divididos nos seguintes grupos: Controle: n = 30 indivíduos (41,0%); Hipercolesterolêmico [Hiper (-)]: n = 33 indivíduos (45,0%) e Hipercolesterolêmico com Aterosclerose [Hiper (+)]: n = 10 indivíduos (14,0%), conforme apresentado na **Figura 4**.

**Figura 4:** Organograma de seleção dos indivíduos inclusos no estudo.



LDL: lipoproteína de baixa densidade, TG: triacilgliceróis, DAC: doença arterial coronariana, IMC: índice de massa corporal.

Considerando o número de indivíduos inclusos em cada grupo, verificamos que o grupo Hiper (+) não atingiu o tamanho amostral previamente estabelecido para este estudo. Neste sentido, abaixo são listados os fatores que dificultaram o recrutamento de novos pacientes para este grupo:

I – Prescrição indiscriminada de medicamentos do grupo das estatinas;

II – Pacientes com diagnóstico de DAC, porém com ausência de hipercolesterolemia associada à LDL.

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA

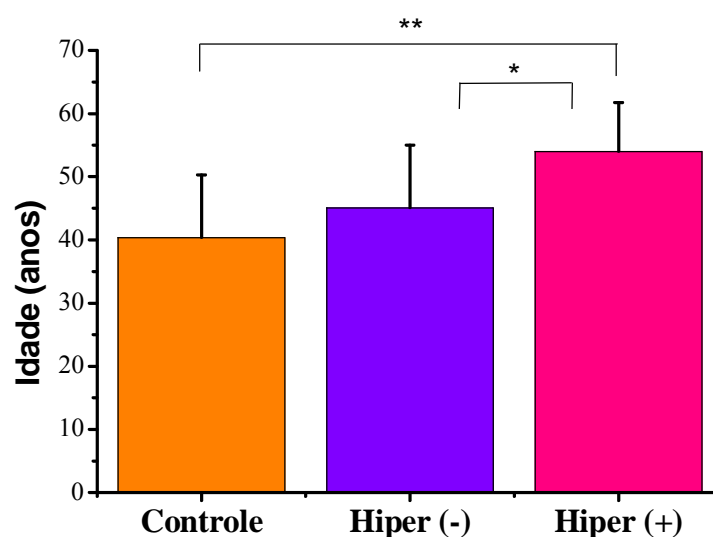
A **Tabela 1** apresenta a análise descritiva da distribuição do sexo e das faixas etárias, por grupo de estudo. O grupo Controle foi composto por 7 indivíduos do sexo masculino (23,3%) e 23 do sexo feminino (76,7%), o grupo Hiper (-) por 11 homens (33,3%) e 22 mulheres (66,7%), e o grupo Hiper (+) por 5 homens (50,0%) e 5 mulheres (50,0%). A comparação entre os grupos da distribuição dos sexos não apresentou diferença estatisticamente significativa. Nos grupos Controle e Hiper (-) observamos predomínio de indivíduos pertencentes à faixa etária de 31 à 50 anos (63,3% e 54,5%; respectivamente) e no grupo Hiper (+) pacientes com idade entre 51 e 65 anos (70,0%).

**Tabela 1:** Distribuição dos indivíduos por grupos de estudo, segundo sexo e faixa etária, Brasil, 2005-2006.

Variáveis	Controle		Hiper (-)		Hiper (+)	
	N	%	n	%	n	%
<b>Sexo</b>						
Masculino	7	23,3	11	33,3	5	50,0
Feminino	23	76,7	22	66,7	5	50,0
<b>Faixa Etária</b>						
25 – 30 anos	5	16,7	3	9,1	0	0,0
31 – 50 anos	19	63,3	18	54,5	3	30,0
51 – 65 anos	6	20,0	12	36,4	7	70,0

n= 73 indivíduos.

Quando analisou-se a variação da idade média entre os grupos, verificamos que a média e desvio padrão do grupo Controle foi de  $40,4 \pm 9,9$  anos, do grupo Hiper (-)  $45,0 \pm 10$  anos e do grupo Hiper (+)  $54,0 \pm 7,7$  anos (**Gráfico 1**). Neste sentido, a análise estatística indicou diferença significativa entre os grupos Controle e Hiper (+) ( $p = 0,001$ ) e entre os grupos Hiper (-) e Hiper (+) ( $p = 0,03$ ).

**Gráfico 1:** Idade média e desvio padrão dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+).

A análise das diferenças entre os grupos foi realizada pelo teste ANOVA. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,001$ .

Em relação à raça, a maioria dos indivíduos se classificava como branco nos grupos Controle e Hiper (-) (63,3% e 63,6%; respectivamente). Ao contrário, no grupo Hiper (+) a raça parda prevaleceu (60,0%). O estado civil de maior prevalência foi casado para todos os grupos. Quando se avaliou a escolaridade, verificamos que os indivíduos com ensino superior completo predominaram nos grupos Controle e Hiper (-) (50,0% e 39,4%; respectivamente). No grupo Hiper (+), observamos que a maioria dos indivíduos tinha ensino fundamental incompleto (40,0%). A faixa de renda mensal predominante no grupo Controle e Hiper (-) foi entre 6 e 10 salários mínimos (53,3% e 36,4%; respectivamente) e, ao contrário, no grupo Hiper (+) podemos observar que 60,0% possuía renda entre 1 e 5 salários mínimos.

### 5.3 HISTÓRIA CLÍNICA E FATORES DE RISCO PARA DAC

De acordo com os aspectos clínicos, mostrados na **Tabela 2**, 6,7% dos indivíduos do grupo Controle, 24,2% do grupo Hiper (-) e 100% do grupo Hiper (+) apresentaram patologias clinicamente diagnosticadas, sendo que estas não fizeram parte dos critérios de exclusão. As patologias relatadas pelos participantes do estudo foram: nefropatia, refluxo gástrico, gastrite, cisticercose, toxoplasmose tratada, talassemia, artrose, mioma uterino, síndrome do ovário policístico, hérnia de disco, rinite alérgica, labirintite, enxaqueca, apnéia do sono e as doenças arteriais coronarianas. Embora 22 indivíduos do grupo Controle, 25 indivíduos do grupo Hiper (-) e 10 indivíduos do grupo Hiper (+) (73,3; 75,8 e 100%; respectivamente) tenham apresentado um ou mais fatores de risco tradicionais para DAC, somente o grupo Hiper (+) teve diagnóstico de DAC clinicamente confirmado. Tanto a presença de patologias isoladas como as associadas ao diagnóstico de DAC apresentaram diferença estatisticamente significativa, quando o grupo Hiper (+) foi comparado aos grupos Controle e Hiper (-).

**Tabela 2:** Aspectos clínicos associados às doenças arteriais coronarianas (DAC) dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), Brasil, 2005-2006.

Variáveis	Controle		Hiper (-)		Hiper (+)	
	n	%	n	%	n	%
Presença de Patologia	2 <sup>a</sup>	6,7	8 <sup>a,b</sup>	24,2	10 <sup>c</sup>	100
Fator de Risco para DAC	22 <sup>a</sup>	73,3	25 <sup>a,b</sup>	75,8	10 <sup>a,b,c</sup>	100
Diagnóstico de DAC	0 <sup>a</sup>	0,0	0 <sup>a,b</sup>	0,0	10 <sup>c</sup>	100

n= 73 indivíduos. DAC: doença arterial coronariana. A análise das diferenças entre os grupos foi realizada pelo teste qui-quadrado, com nível de significância de  $p < 0,05$ . Valores acompanhados da mesma letra não apresentaram diferença estatisticamente significativa.

Considerando que alguns indivíduos do estudo apresentaram fatores de risco tradicionais para DAC, a **Tabela 3** apresenta estes fatores de risco, segundo grupo de estudo. De acordo com os resultados, verificamos que a baixa concentração de colesterol associado à HDL apresentou maior prevalência, sendo seguida pela história familiar e faixa etária positiva para DAC em todos os grupos, exceto para os indivíduos do grupo Hiper (+). A análise estatística demonstrou que os fatores de risco HAS e idade foram diferentes no grupo Hiper (+), quando comparado aos grupos Controle ( $p < 0,001$  e  $p = 0,01$ , respectivamente) e Hiper (-) ( $p < 0,001$  e  $p = 0,02$ , respectivamente) e o baixo nível de colesterol associado à HDL apresentou menor incidência no grupo Controle, quando comparado ao grupo Hiper (+) ( $p = 0,04$ ).

**Tabela 3:** Fatores de risco para DAC dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), Brasil, 2005-2006.

Variáveis	Controle		Hiper (-)		Hiper (+)	
	n	%	n	%	n	%
HAS	0 <sup>a</sup>	0,0	0 <sup>a,b</sup>	0,0	8 <sup>c</sup>	80,0
HDL-c baixa	16 <sup>a</sup>	53,3	19 <sup>a,b</sup>	57,6	9 <sup>b,c</sup>	90,0
Idade	4 <sup>a</sup>	13,3	6 <sup>a,b</sup>	18,2	6 <sup>c</sup>	60,0
História Familiar	7 <sup>a</sup>	23,3	7 <sup>a,b</sup>	21,2	3 <sup>a,b,c</sup>	30,0

n= 73 indivíduos. HAS: hipertensão arterial sistêmica; HDL-c: colesterol associado à lipoproteína de alta densidade. A análise das diferenças entre os grupos foi realizada pelo teste qui-quadrado, com nível de significância de  $p < 0,05$ . Valores acompanhados da mesma letra não apresentaram diferença estatisticamente significativa.

Na **Tabela 4**, apresentamos a média e o desvio padrão do escore de risco de *Framingham* (ERF) distribuído por sexo e grupo de estudo. Essa classificação foi utilizada visando identificar o risco absoluto de evento coronariano em 10 anos. A partir da análise



estatística, podemos observar diferença significativa para o sexo masculino entre os grupos Controle e Hiper (+) ( $p = 0,01$ ) e entre os grupos Hiper (-) e Hiper (+) ( $p = 0,01$ ). No sexo feminino houve diferença estatisticamente significativa do grupo Controle com os grupos Hiper (-) e Hiper (+) ( $p < 0,001$  e  $p < 0,001$ ; respectivamente).

**Tabela 4:** Escore de risco de *Framingham* dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), Brasil, 2005-2006.

Variáveis	Controle		Hiper (-)		Hiper (+)	
	média	DP	média	DP	média	DP
Masculino	3,9 <sup>a</sup>	4,9	5,1 <sup>a,b</sup>	4,9	13,2 <sup>c</sup>	1,8
Feminino	3,7 <sup>a</sup>	6,3	11,3 <sup>b</sup>	3,9	14,6 <sup>b,c</sup>	4,6

n= 73 indivíduos. A análise das diferenças entre os grupos foi realizada pelo teste ANOVA, com nível de significância de  $p < 0,05$ . Valores acompanhados da mesma letra não apresentaram diferença estatisticamente significativa.

Tendo por base os dados do ERF, realizamos a classificação dos indivíduos, segundo a IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (SBC, 2007), conforme análise descritiva apresentada na **Tabela 5**. Todos os indivíduos dos grupos Controle e Hiper (-) foram classificados como apresentando baixo risco para desenvolver DAC nos próximos dez anos; enquanto o grupo Hiper (+), todos os indivíduos apresentaram aterosclerose significativa, visto que era um dos critérios de inclusão para este grupo.

**Tabela 5:** Classificação de risco para doença arterial coronariana dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), segundo o escore de risco de *Framingham*, Brasil, 2005-2006.

Variáveis	Controle		Hiper (-)		Hiper (+)	
	n	%	n	%	n	%
<b>Classificação de Risco para DAC</b>						
Baixo Risco	30	100	33	100	0	0,0
Risco Intermediário	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Alto Risco ou diabéticos	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Aterosclerose significativa	0	0,0	0	0,0	10	100

n= 73 indivíduos. DAC: doença arterial coronariana.

Em média, os valores de pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD), apresentados na **Tabela 6**, não mostraram diferença significativa entre os grupos, sendo todos os indivíduos participantes classificados como normotensos, exceto o grupo Hiper (+) que apresentou indivíduos que faziam controle da pressão arterial por medicamento ou foram classificados como hipertensos leves. Em relação ao ITB, podemos observar que houve diferença significativa entre os grupos Controle e Hiper (-) apenas para o ITB direito ( $p = 0,03$ ). Apesar das diferenças observadas entre os grupos, todos os indivíduos foram considerados normais, sob o ponto de vista de doença arterial periférica com obstrução  $\geq 50,0\%$ .

**Tabela 6:** Avaliação da pressão arterial e do índice tornozelo-braço dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), Brasil, 2005-2006.

Variáveis	Controle		Hiper (-)		Hiper (+)	
	média	DP	média	DP	média	DP
PAS (mmHg)	11,6 <sup>a</sup>	1,1	11,8 <sup>a,b</sup>	0,8	12,8 <sup>a,b,c</sup>	1,4
PAD (mmHg)	8,0 <sup>a</sup>	0,9	8,1 <sup>a,b</sup>	1,0	8,6 <sup>a,b,c</sup>	1,2
ITB esquerdo	1,0 <sup>a</sup>	0,1	1,1 <sup>a,b</sup>	0,9	1,1 <sup>a,b,c</sup>	0,1
ITB direito	1,0 <sup>a</sup>	0,1	1,1 <sup>b</sup>	0,1	1,0 <sup>a,b,c</sup>	0,1

n= 73 indivíduos. PAS: pressão arterial sistólica, PAD: pressão arterial diastólica, ITB: índice tornozelo-braço. A análise das diferenças entre os grupos foi realizada pelo teste ANOVA, com nível de significância de  $p < 0,05$ . Valores acompanhados da mesma letra não apresentaram diferença estatisticamente significativa.

#### 5.4 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR

A **Tabela 7** mostra os valores médios e desvios padrão do consumo de calorias, macronutrientes, micronutrientes e fibras, caracterizando o hábito alimentar dos últimos doze meses dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+). Observamos diferença entre os grupos Controle e Hiper (+) ( $p = 0,03$ ) e uma tendência entre os grupos Hiper (-) e Hiper (+) ( $p = 0,05$ ) para o consumo de carboidratos (g). O consumo de vitamina C foi estatisticamente maior no grupo Hiper (+), quando comparado ao grupo Controle ( $p = 0,03$ ), sendo este último semelhante ao grupo Hiper (-). O consumo de calorias e dos

demais nutrientes não apresentaram diferenças estatisticamente significativa entre os grupos.

**Tabela 7:** Consumo diário de energia, macronutrientes, micronutrientes e fibras brutas dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), Brasil, 2005-2006.

Variáveis	Controle		Hiper (-)		Hiper (+)	
	média	DP	média	DP	média	DP
Energia (Kcal)	1904,9 <sup>a</sup>	602,0	1935,2 <sup>a,b</sup>	537,4	2300,5 <sup>a,b,c</sup>	799,4
Carboidratos (g)	256,3 <sup>a</sup>	79,1	263,6 <sup>a,b</sup>	77,9	339,2 <sup>b,c</sup>	127,0
Proteínas (g)	88,6 <sup>a</sup>	29,9	87,7 <sup>a,b</sup>	25,9	97,1 <sup>a,b,c</sup>	33,0
Gorduras (g)	58,4 <sup>a</sup>	27,8	58,9 <sup>a,b</sup>	21,3	61,7 <sup>a,b,c</sup>	23,2
AGS (g)	20,8 <sup>a</sup>	9,2	23,0 <sup>a,b</sup>	9,1	24,4 <sup>a,b,c</sup>	9,7
AGM (g)	21,1 <sup>a</sup>	10,4	22,2 <sup>a,b</sup>	8,5	21,6 <sup>a,b,c</sup>	9,5
AGP (g)	13,0 <sup>a</sup>	5,6	16,8 <sup>a,b</sup>	12,0	11,3 <sup>a,b,c</sup>	7,3
Ácido Oléico (g)	18,6 <sup>a</sup>	10,3	18,8 <sup>a,b</sup>	8,4	19,8 <sup>a,b,c</sup>	8,9
Ácido Linoléico (g)	10,4 <sup>a</sup>	4,2	11,1 <sup>a,b</sup>	3,5	9,5 <sup>a,b,c</sup>	5,0
Colesterol (mg)	246,2 <sup>a</sup>	122,1	234,7 <sup>a,b</sup>	111,5	286,0 <sup>a,b,c</sup>	155,8
Vitamina A (UI)	6365,1 <sup>a</sup>	4551,4	8027,5 <sup>a,b</sup>	4404,1	9469,3 <sup>a,b,c</sup>	5629,4
Vitamina A (Eq. ret)	950,5 <sup>a</sup>	894,6	1125,7 <sup>a,b</sup>	610,2	1253,8 <sup>a,b,c</sup>	633,7
Vitamina C (mg)	135,5 <sup>a</sup>	86,2	178,4 <sup>a,b</sup>	101,5	226,8 <sup>b,c</sup>	88,2
Vitamina E ( $\alpha$ -TE)	10,5 <sup>a</sup>	4,0	11,5 <sup>a,b</sup>	5,3	12,2 <sup>a,b,c</sup>	8,5
Alfa-Caroteno ( $\mu$ g)	727,0 <sup>a</sup>	656,6	846,9 <sup>a,b</sup>	606,0	997,8 <sup>a,b,c</sup>	699,2
Beta-Caroteno ( $\mu$ g)	3035,4 <sup>a</sup>	1603,3	3605,3 <sup>a,b</sup>	1968,9	3843,8 <sup>a,b,c</sup>	2306,6
Fibras (g)	19,6 <sup>a</sup>	7,7	20,6 <sup>a,b</sup>	7,6	22,1 <sup>a,b,c</sup>	10,1

n= 73 indivíduos. AGS: ácidos graxos saturados, AGM: ácidos graxos monoinsaturados, AGP: ácidos graxos poliinsaturados. A análise das diferenças entre os grupos foi realizada pelo teste ANOVA, com nível de significância de  $p < 0,05$ . Valores acompanhados da mesma letra não apresentaram diferença estatisticamente significativa.

O ajuste dos nutrientes pela energia baseado no método residual, proporcionou resultados diferentes dos dados de consumo bruto. Os indivíduos do grupo Hiper (-) apresentaram maior ingestão de AGM que o grupo Hiper (+) ( $p = 0,02$ ), mas semelhante ao grupo Controle. O consumo de AGP no grupo Hiper (+) foi inferior ao observado no grupo Hiper (-) ( $p = 0,01$ ). O grupo Controle apresentou tendência ( $p = 0,05$ ) a ter um consumo de AGP superior ao grupo Hiper (+). Esse resultado foi confirmado pelas análises do consumo de ácido linoléico, onde verificamos que o grupo Hiper (+) permaneceu com menor

consumo, quando comparado aos grupos Controle e Hiper (-) ( $p = 0,01$  e  $p = 0,01$ ; respectivamente).

Destacamos ainda que as variáveis de consumo foram analisadas sob a forma ajustada pela densidade energética e na forma bruta logaritmizada e, em nenhum destes modelos houve diferença no consumo alimentar entre os grupos de estudo, exceto para o consumo de vitamina C, que apresentou diferença entre os grupos Controle e Hiper (+) ( $p = 0,02$ ), para a análise dos nutrientes na forma bruta logaritmizada.

Além da avaliação do consumo alimentar habitual através da ingestão de nutrientes e micronutrientes, consideramos o consumo de grupos de alimentos. O consumo médio diário de grupos alimentares, como carnes, peixes, leguminosas e ovos, leite e derivados, vegetais, frutas oleaginosas e frutas e sucos está apresentado na **Tabela 8**. A análise comparativa indicou que o grupo Controle apresentou consumo de leite e derivados menor que o grupo Hiper (+) ( $p = 0,02$ ), mas similar ao grupo Hiper (-) ( $p = 0,25$ ). Os demais grupos de alimentos apresentaram perfis estatisticamente semelhantes, quando se comparou os grupos de estudo.

**Tabela 8:** Consumo diário de grupos alimentares dos indivíduos dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), Brasil, 2005-2006.

Variáveis	Controle		Hiper (-)		Hiper (+)	
	média	DP	média	DP	média	DP
Carnes (g)	127,8 <sup>a</sup>	86,1	111,0 <sup>a,b</sup>	67,5	117,2 <sup>a,b,c</sup>	79,1
Peixes (g)	15,3 <sup>a</sup>	16,6	17,6 <sup>a,b</sup>	19,9	9,5 <sup>a,b,c</sup>	9,2
Leguminosas e Ovos (g)	169,5 <sup>a</sup>	121,4	136,4 <sup>a,b</sup>	101,6	154,4 <sup>a,b,c</sup>	100,5
Leite e derivados (g)	232,6 <sup>a</sup>	121,2	323,2 <sup>a,b</sup>	225,5	438,2 <sup>b,c</sup>	283,1
Vegetais (g)	133,5 <sup>a</sup>	65,8	161,9 <sup>a,b</sup>	86,1	131,0 <sup>a,b,c</sup>	80,0
Frutas Oleaginosas (g)	3,4 <sup>a</sup>	8,1	6,1 <sup>a,b</sup>	14,4	1,6 <sup>a,b,c</sup>	4,7
Frutas e Sucos (g)	265,3 <sup>a</sup>	206,4	341,2 <sup>a,b</sup>	217,0	406,4 <sup>a,b,c</sup>	167,1

n= 73 indivíduos. A análise das diferenças entre os grupos foi realizada pelo teste ANOVA, com nível de significância de  $p < 0,05$ . Valores acompanhados da mesma letra não apresentaram diferença estatisticamente significativa.

## 5.5 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

A **Tabela 9** apresenta os valores médios e desvios padrão do índice de massa corporal (IMC), circunferência da cintura (CC), porcentagem de gordura corporal e porcentagem de massa magra, distribuídos por grupo de estudo. A média do IMC, observada nos grupos Controle ( $25,9 \pm 4,3 \text{ Kg/m}^2$ ), Hiper (-) ( $25,9 \pm 4,1 \text{ Kg/m}^2$ ) e Hiper (+) ( $27,8 \pm 3,5 \text{ Kg/m}^2$ ) classificou os indivíduos como pré-obesos. O valor médio da circunferência da cintura foi classificado como obesidade abdominal para todos os grupos, exceto para o sexo masculino do grupo Hiper (-), cujos valores foram em média  $87,6 \pm 12,6$  cm e, portanto, sendo considerado normal. Para os dados de porcentagem de gordura corporal, podemos observar que os homens dos grupos Controle ( $24,6 \pm 6,0 \%$ ), Hiper (-) ( $19,2 \pm 4,7\%$ ) e Hiper (+) ( $19,6 \pm 6,7 \%$ ) apresentaram valor médio normal. Ao contrário, os resultados observados para o sexo feminino foram acima do recomendado. A análise comparativa das variáveis antropométricas não mostrou diferença significativa entre os grupos.

**Tabela 9:** Valores médios do índice de massa corporal (IMC), circunferência da cintura (CC), porcentagem de gordura corporal e porcentagem de massa magra dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), Brasil, 2005-2006.

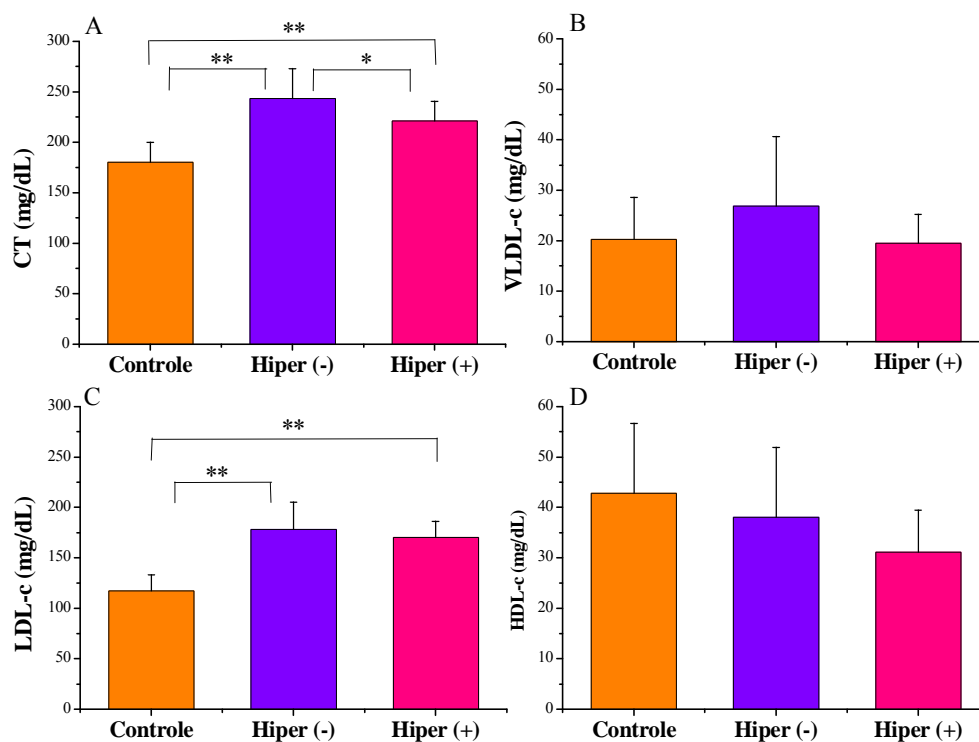
Variáveis	Controle		Hiper (-)		Hiper (+)	
	média	DP	média	DP	média	DP
<b>Estado Nutricional</b>						
IMC ( $\text{kg/m}^2$ )	25,9 <sup>a</sup>	4,3	25,9 <sup>a,b</sup>	4,1	27,8 <sup>a,b,c</sup>	3,5
<b>CC (cm)</b>						
Masculino	98,3 <sup>a</sup>	6,6	87,6 <sup>a,b</sup>	12,6	96,6 <sup>a,b,c</sup>	17,2
Feminino	82,2 <sup>a</sup>	9,7	86,3 <sup>a,b</sup>	10,3	89,6 <sup>a,b,c</sup>	2,2
<b>Gordura Corporal (%)</b>						
Masculino	24,6 <sup>a</sup>	6,0	19,2 <sup>a,b</sup>	4,7	19,6 <sup>a,b,c</sup>	6,7
Feminino	36,6 <sup>a</sup>	7,1	37,1 <sup>a,b</sup>	8,3	42,5 <sup>a,b,c</sup>	2,7
<b>Massa Magra (%)</b>						
Masculino	74,5 <sup>a</sup>	6,0	80,8 <sup>a,b</sup>	4,7	80,4 <sup>a,b,c</sup>	6,7
Feminino	63,4 <sup>a</sup>	7,1	63 <sup>a,b</sup>	8,3	57,5 <sup>a,b,c</sup>	2,7

n= 73 indivíduos. IMC: índice de massa corporal, CC: circunferência da cintura. A análise das diferenças entre os grupos foi realizada pelo teste ANOVA, com nível de significância de  $p < 0,05$ . Valores acompanhados da mesma letra não apresentaram diferença estatisticamente significativa.

## 5.6 PERFIL LIPÍDICO

O perfil lipídico obtido através do método de FRIEDEWALD (1972) e apresentado no **Gráfico 2(A-D)**, indicou que a concentração de colesterol plasmático no grupo Hiper (-) ( $243,5 \pm 29,7$  mg/dL) foi maior do que nos grupos Controle e Hiper (+) ( $180,5 \pm 19,6$  e  $221,0 \pm 19,6$  mg/dL; respectivamente) ( $p < 0,001$  e  $p = 0,04$ ; respectivamente), tendo este último apresentado valores superiores ao grupo Controle ( $p < 0,001$ ). A concentração de colesterol associado à LDL nos grupos Hiper (-) e Hiper (+) ( $178,5 \pm 26,9$  e  $170,3 \pm 15,9$  mg/dL; respectivamente) foi maior que no grupo Controle ( $117,4 \pm 15,9$  mg/dL) ( $p < 0,001$  e  $p < 0,001$ ; respectivamente), conforme estabelecido nos critérios de inclusão. Perfil inverso foi observado em relação ao conteúdo de colesterol associado à HDL, onde observamos tendência do grupo Controle apresentar concentração superior ( $42,9 \pm 13,8$  mg/dL), quando comparado ao grupo Hiper (+) ( $31,2 \pm 8,3$  mg/dL) ( $p = 0,05$ ).

**Gráfico 2:** Perfil lipídico dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+), segundo fórmula de Friedewald.



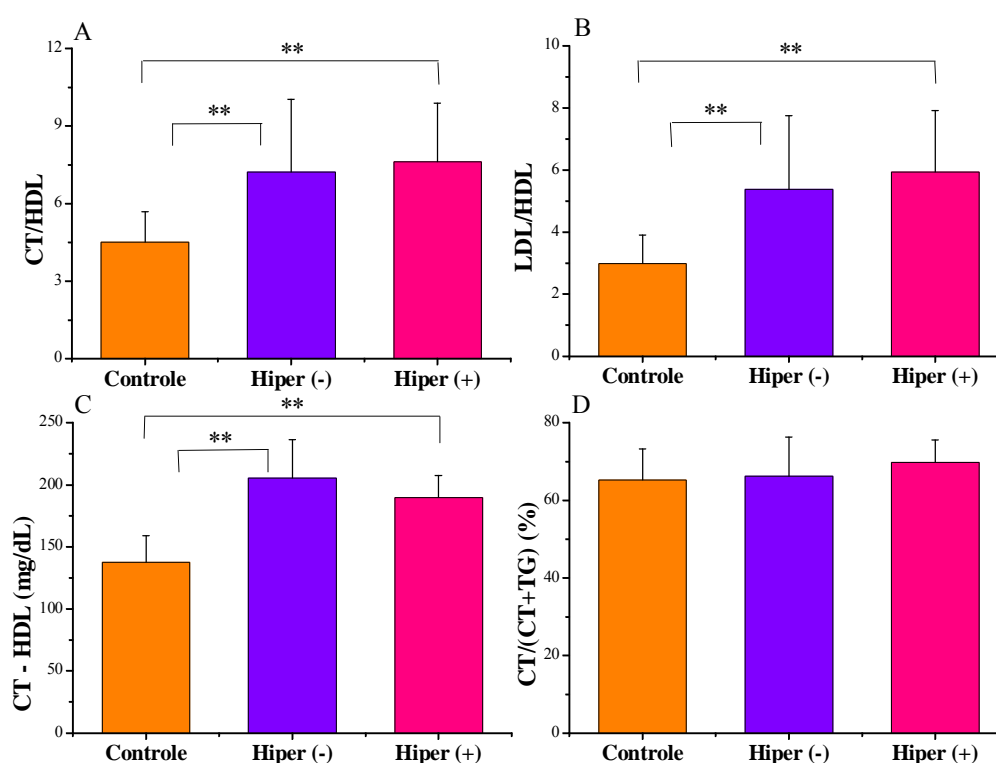
CT: colesterol total, VLDL-c: colesterol associado à lipoproteína de muito baixa densidade; LDL-c: colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade, HDL-c: colesterol associado à lipoproteína de alta densidade. A análise das diferenças entre os grupos foi realizada pelo teste ANOVA. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,001$ .

Considerando que a concentração de triacilgliceróis plasmáticos, segundo a fórmula de Friedewald, mantém relação direta com o conteúdo de colesterol associado à VLDL, os resultados obtidos nos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+) foram de  $101,6 \pm 41,6$  mg/dL;  $134,5 \pm 68,8$  mg/dL e  $97,8 \pm 28,3$  mg/dL; respectivamente. Esta variação foi estatisticamente semelhante, quando os três grupos foram comparados.

A partir dos dados apresentados acima, estabeleceu-se relações entre as variáveis visando identificar o grupo com perfil lipídico mais aterogênico [Gráfico 3(A-D)]. Neste sentido, as relações entre colesterol total e HDL (Índice de Castelli I), entre LDL e HDL (Índice de Castelli II) (CASTELLI et al., 1983) e a concentração de colesterol não associado à HDL (CT-HDL) apresentaram valores menores no grupo Controle, quando

comparadas aos grupos Hiper (-) ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$  e  $p < 0,001$ ; respectivamente) e Hiper (+) ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$  e  $p < 0,001$ ; respectivamente), sendo estes semelhantes entre si. Quando avaliamos o percentual de colesterol em relação aos lipídeos totais (colesterol + triacilgliceróis), não verificamos diferença significativa entre os grupos.

**Gráfico 3:** Índice de Castelli I e II, concentração de colesterol não associado à HDL e percentual de colesterol em relação aos lipídeos totais dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+).



CT: colesterol total, VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade, HDL: lipoproteína de alta densidade. TG: triacilgliceróis. A análise das diferenças entre os grupos foi realizada pelo teste ANOVA. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,001$ .

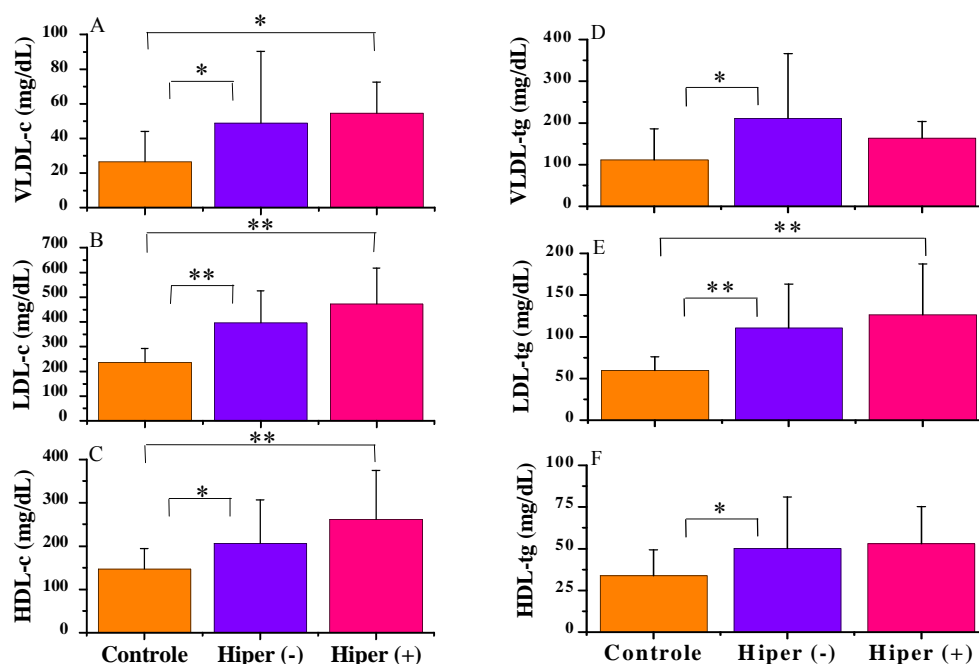
Visando estabelecer comparações entre os grupos, quanto aos parâmetros bioquímicos obtidos a partir das lipoproteínas isoladas por ultracentrifugação, estas tiveram seu perfil lipídico avaliado independentemente da análise plasmática [Gráfico 4(A-C)]. De acordo com as análises, as concentrações de colesterol associado às partículas de VLDL, LDL e HDL dos grupos Hiper (-) ( $p = 0,02$ ;  $p < 0,001$  e  $p = 0,02$ ; respectivamente) e Hiper



(+) ( $p = 0,04$ ;  $p < 0,001$  e  $p < 0,001$ ; respectivamente) foram maiores que as do grupo Controle, mas semelhantes entre si. Estes resultados confirmaram os dados previamente obtidos através da fórmula de Friedewald, onde a concentração de colesterol associado à LDL foi menor no grupo Controle, quando comparado aos demais grupos.

Dando seqüência à caracterização do perfil lipídico, as concentrações de triacilgliceróis associados às partículas de VLDL e HDL no grupo Hiper (-) foram maiores que a observada no grupo Controle ( $p = 0,01$  e  $p = 0,03$ ; respectivamente), mas semelhantes ao grupo Hiper (+). E, a concentração de triacilgliceróis associada à partícula de LDL no grupo Controle apresentou menor valor que a observada nos grupos Hiper (-) e Hiper (+) ( $p < 0,001$  e  $p < 0,001$ ; respectivamente) [Gráfico 4(D-F)].

**Gráfico 4:** Concentração de colesterol e triacilgliceróis associado às lipoproteínas (VLDL, LDL e HDL) dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+).



C: colesterol, Tg: triacilgliceróis, VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade, HDL: lipoproteína de alta densidade. A análise das diferenças entre os grupos foi realizada pelo teste ANOVA. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,001$ .

Considerando que o perfil de proteínas nas lipoproteínas variou de modo significativo quando os três grupos de estudo foram comparados, realizamos a

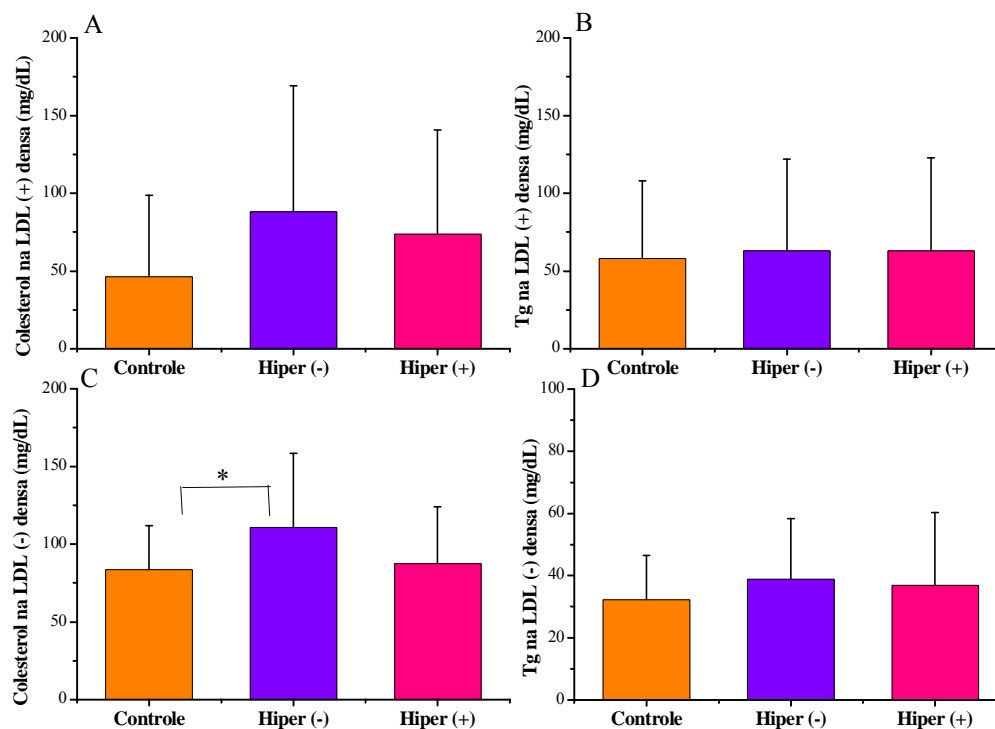
normalização do perfil lipídico por essa variável. A comparação entre os grupos demonstrou que apenas o colesterol associado à HDL no grupo Hiper (+) apresentou concentração maior do que o grupo Hiper (-) ( $p = 0,01$ ). A normalização da concentração de triacilgliceróis pelas proteínas gerou resultados estatisticamente semelhantes entre os grupos, exceto para a VLDL, cuja média do grupo Hiper (+) foi menor, quando comparada ao grupo Hiper (-) ( $p = 0,01$ ). As demais lipoproteínas apresentaram um perfil estatisticamente semelhante, tanto para colesterol, quanto para triacilgliceróis após a normalização pela concentração de proteínas.

As relações entre as variáveis lipídicas foram baseadas nos resultados do perfil lipídico obtidos a partir das lipoproteínas isoladas. Neste sentido, os índices de Castelli I e II no grupo Hiper (-) foram superiores aos apresentados pelo grupo Controle ( $p = 0,02$  e  $p = 0,02$ ; respectivamente), mas semelhantes ao grupo Hiper (+). O conteúdo de colesterol não associado à HDL nos grupos Hiper (-) e Hiper (+) foram superiores ao observado no grupo Controle ( $p < 0,001$  e  $p < 0,001$ ; respectivamente), mas semelhantes entre si. A análise comparativa do porcentual de colesterol em relação aos lipídeos totais, não mostrou diferença significativa entre os grupos.

A partir da análise das diferenças entre as relações descritas acima, quando obtidas a partir da fórmula de Friedewald ou pela concentração de colesterol e triacilgliceróis analisadas nas lipoproteínas (VLDL, LDL e HDL) isoladas; verificamos que, em termos relativos, estas apresentaram perfis semelhantes. Portanto, os grupos Hiper (-) e Hiper (+) apresentaram um perfil mais aterogênico que o grupo Controle, mas semelhantes entre si.

Além da análise do perfil lipídico estimado pela fórmula de Friedewald e através das concentrações de colesterol e triacilgliceróis presentes em cada lipoproteína isolada, verificamos, também, o perfil lipídico das sub-frações da LDL (LDL mais densa e menos densa). A comparação dos valores indicou que apenas a concentração de colesterol associado à LDL menos densa nos grupos Controle e Hiper (-) ( $p = 0,02$ ) apresentou diferença estatisticamente significativa [**Gráfico 5(A-D)**].

**Gráfico 5:** Concentração de colesterol e triacilgliceróis associado às sub-frações de LDL (LDL mais densa e menos densa) dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+).



LDL: lipoproteína de baixa densidade. Tg: triacilgliceróis. A análise das diferenças entre os grupos foi realizada pelo teste ANOVA. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,001$ .

Quando a concentração de colesterol e triacilgliceróis foram normalizadas pelo respectivo conteúdo de proteínas, não observamos nenhuma diferença entre os grupos.

Considerando o caráter mais aterogênico da sub-fração de LDL mais densa, em relação à LDL menos densa, realizamos a comparação do perfil lipídico, independente do grupo de estudo. Neste sentido, observamos que o conteúdo de colesterol foi menor na sub-fração mais densa, quando comparado à sub-fração menos densa ( $p < 0,001$ ). Perfil inverso foi observado quando a concentração de colesterol foi normalizada pelo conteúdo de proteínas das respectivas sub-frações ( $p < 0,001$ ). Quando avaliamos a concentração de triacilgliceróis nas sub-frações de LDL, verificamos que o conteúdo deste lipídeo na LDL

mais densa foi maior ( $p = 0,01$ ) que o observado na LDL menos densa. Esse perfil se manteve após a normalização pela respectiva concentração de proteínas ( $p < 0,001$ ).

É importante ressaltar, que para as análises bioquímicas na sub-fração mais densa da LDL de sete indivíduos [um do grupo Controle, três do grupo Hiper (-) e três do grupo Hiper (+)] não foi possível corrigir a diluição usando o fator, pois o pouco volume de amostra obtida impossibilitou a análise de proteínas.

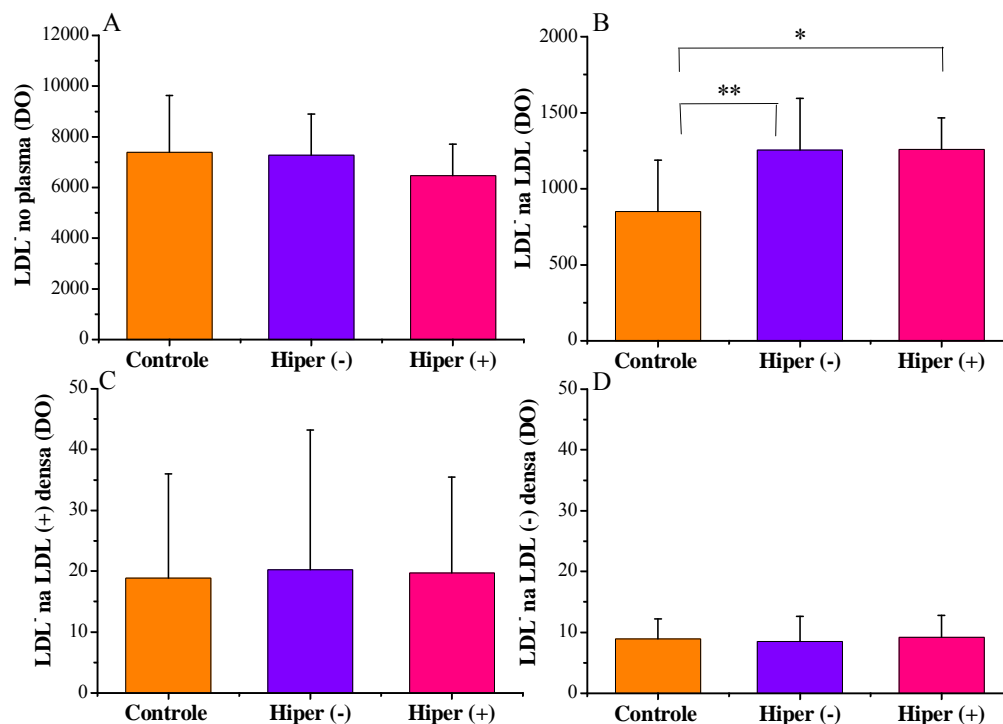
## 5.7 DETECÇÃO DE LDL<sup>-</sup>

O **Gráfico 6(A)** apresenta os resultados de detecção de LDL<sup>-</sup> no plasma, na LDL total, na LDL mais densa e na LDL menos densa nos três grupos estudados. A comparação entre os três grupos indicou que não houve diferença significativa no conteúdo de LDL<sup>-</sup> no plasma. Ao contrário, quando normalizamos o conteúdo de LDL<sup>-</sup> no plasma pela respectiva concentração de proteína, verificamos que o grupo Controle apresentou valores superiores ao grupo Hiper (+) ( $p = 0,01$ ), mas semelhantes ao Hiper (-). Avaliamos ainda, o conteúdo de LDL<sup>-</sup> plasmática, após normalização pela concentração de colesterol total. Após esta análise, verificamos que o grupo Controle obteve valor maior, quando comparado aos grupos Hiper (-) e (+) ( $p < 0,001$  e  $p = 0,01$ , respectivamente).

A análise comparativa do conteúdo de LDL<sup>-</sup> na LDL total indicou que os indivíduos normocolesterolêmicos ( $850,2 \pm 337,8$  DO) apresentaram valores inferiores aos grupos Hiper (-) e Hiper (+) ( $1253,1 \pm 340,9$  e  $1258,5 \pm 207,4$  DO; respectivamente) ( $p < 0,001$  e  $p = 0,01$ ; respectivamente), sendo estes semelhantes entre si (**Gráfico 6B**). A comparação do conteúdo de LDL<sup>-</sup> na LDL entre os três grupos de estudo, após normalização pela concentração de proteína da LDL, indicou que o grupo Controle obteve valores maiores que o grupo Hiper (-) ( $p < 0,001$ ) e Hiper (+) ( $p < 0,001$ ). Entretanto, a correção do conteúdo de LDL<sup>-</sup> pela concentração de colesterol na LDL, indicou que estes apresentaram perfis estatisticamente semelhantes.

Quando comparamos o conteúdo de LDL<sup>-</sup> nas sub-frações de LDL, não observamos diferença entre os grupos (**Gráfico 6C-D**). Perfil semelhante foi encontrado, quando o conteúdo de LDL<sup>-</sup> foi normalizado pela respectiva concentração de proteína. Entretanto, quando foi realizado a normalização pela concentração de colesterol nas respectivas sub-frações, encontramos que o grupo Controle apresentou maior conteúdo de LDL<sup>-</sup> na sub-fração mais densa, quando comparada ao grupo Hiper (-) ( $p = 0,01$ ). Perfil inverso e significativo foi observado, quando comparamos o conteúdo de LDL<sup>-</sup> na sub-fração menos densa, entre os grupos Controle e Hiper (-) ( $p = 0,02$ ).

**Gráfico 6:** Detecção de LDL<sup>-</sup> no plasma, na LDL total, na LDL mais densa e na LDL menos densa dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+).



LDL<sup>-</sup>: lipoproteína de baixa densidade eletronegativa, LDL: lipoproteína de baixa densidade. A análise das diferenças entre os grupos foi realizada pelo teste ANOVA. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,001$ .

Ao analisarmos a distribuição da LDL<sup>-</sup> nas diferentes sub-frações em cada grupo de estudo isolado, verificamos que os grupos Controle e Hiper (-) apresentaram maior conteúdo de LDL<sup>-</sup> ( $p = 0,01$  e  $p = 0,01$ ; respectivamente) na sub-fração mais densa em comparação com a menos densa. Não foi encontrada diferença significativa para a distribuição da LDL<sup>-</sup> entre as diferentes densidades de LDL no grupo Hiper (+).

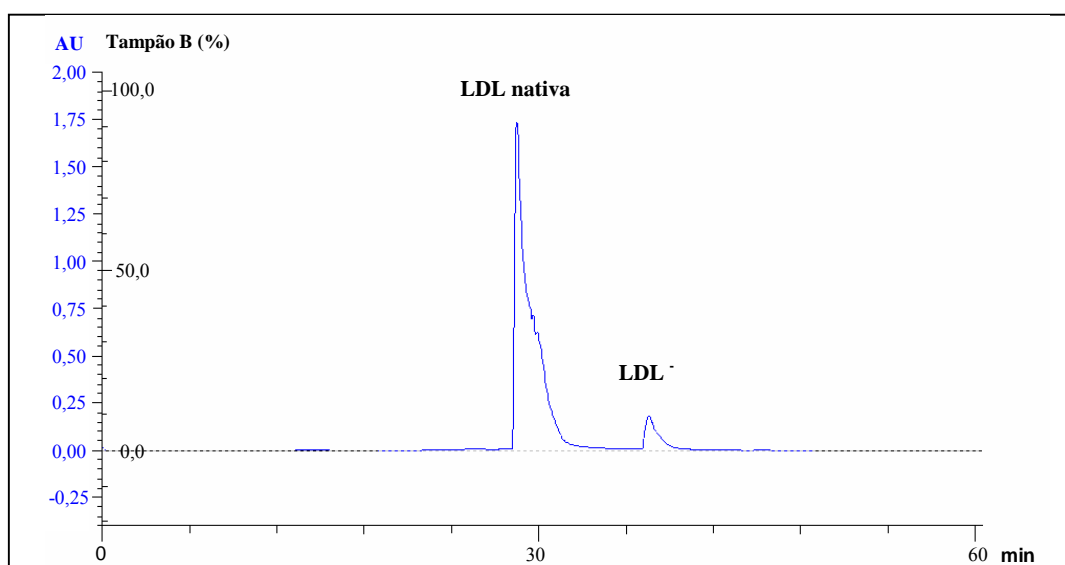
Visando comparar o conteúdo de LDL<sup>-</sup>, independente dos grupos de estudo, realizamos a comparação entre as sub-frações de LDL mais e menos densa. Os resultados indicaram que a LDL mais densa apresentou conteúdo de LDL<sup>-</sup> superior ao observado na LDL menos densa ( $p < 0,001$ ). Perfil semelhante foi encontrado quando os valores de LDL<sup>-</sup>

foram normalizados pelas respectivas concentrações de proteínas ( $p < 0,001$ ) e colesterol ( $p = 0,02$ ).

## 5.8 SEPARAÇÃO DE LDL<sup>-</sup>

De acordo com a metodologia empregada no FPLC para a separação de LDL<sup>-</sup> a partir de um pool de LDL, podemos observar que o primeiro pico correspondeu à LDL nativa, enquanto o segundo pico representou a LDL<sup>-</sup> (**Figura 5**).

**Figura 5:** Cromatograma de separação de LDL nativa e LDL<sup>-</sup>.



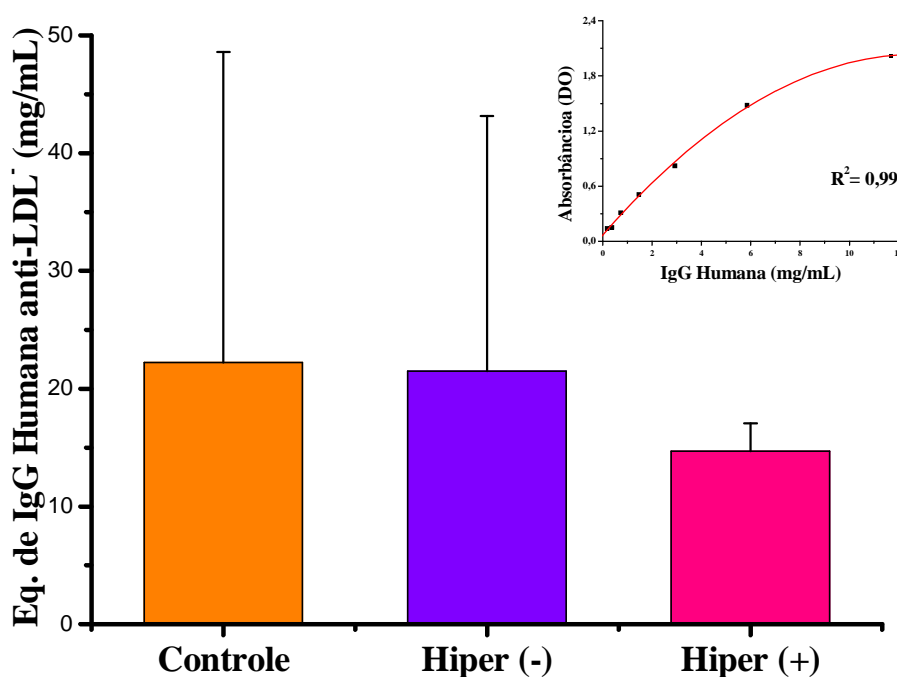
AU: unidade arbitrária, LDL: lipoproteína de baixa densidade, LDL<sup>-</sup>: lipoproteína de baixa densidade eletronegativa, min: minutos.

Deste modo, uma partícula lipoprotéica altamente pura foi obtida e utilizada como antígeno no ELISA, para detecção de auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup>.

5.9 DETECÇÃO DE AUTO-ANTICORPOS ANTI-LDL<sup>-</sup> NO PLASMA

O **Gráfico 7** apresenta os resultados de auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup> no plasma, sendo que a média e desvio padrão no grupo Controle foi de  $22,2 \pm 26,4$  Eq. IgG humana anti-LDL<sup>-</sup> (mg/mL); no grupo Hiper (-)  $21,5 \pm 21,7$  Eq. IgG humana anti-LDL<sup>-</sup> (mg/mL) e no grupo Hiper (+)  $14,7 \pm 2,4$  Eq. IgG humana anti-LDL<sup>-</sup> (mg/mL). Ao realizar a análise estatística, verificamos que não houve diferença significativa entre os três grupos estudados.

**Gráfico 7:** Concentração de auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup> dos grupos Controle, Hiper (-) e Hiper (+).



IgG: imunoglobulina G, LDL<sup>-</sup>: lipoproteína de baixa densidade eletronegativa. A análise das diferenças entre os grupos foi realizada pelo teste ANOVA. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,001$ .



## 5.10 CORRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS DE ESTUDO

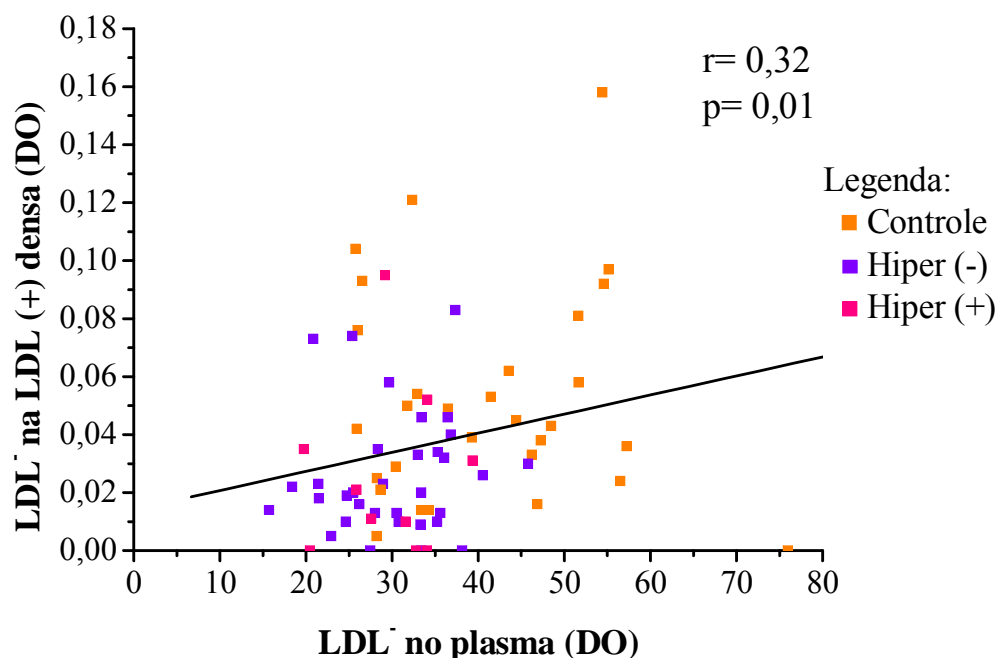
Visando avaliar o impacto do conteúdo de LDL<sup>-</sup> sob os demais parâmetros, realizamos correlações entre esta variável, quando analisada no plasma, na LDL total e nas sub-frações de LDL. Os resultados indicaram que o conteúdo de LDL<sup>-</sup> no plasma, na LDL total e nas sub-frações de LDL, analisados após a normalização pelas respectivas concentrações de proteínas e colesterol apresentaram correlações positivas e significativas com a sua respectiva forma sem ajuste, exceto para o conteúdo de LDL<sup>-</sup> na LDL normalizado pelo colesterol (**Tabela 10**).

**Tabela 10:** Correlações entre o conteúdo de LDL<sup>-</sup> no plasma, na LDL total e nas sub-frações de LDL para todos os indivíduos do estudo, Brasil, 2005-2006.

Variáveis isoladas	Normalizadas pelas proteínas		Normalizadas pelo colesterol	
	r	p	r	p
LDL <sup>-</sup> plasma	0,25	0,04	0,81	< 0,001
LDL <sup>-</sup> LDL	0,41	< 0,001	0,20	0,10
LDL <sup>-</sup> LDL mais densa	0,87	< 0,001	0,37	0,01
LDL <sup>-</sup> LDL menos densa	0,86	< 0,001	0,48	< 0,001

n= 73 indivíduos. LDL: lipoproteína de baixa densidade, LDL<sup>-</sup>: lipoproteína de baixa densidade eletronegativa. A análise das correlações entre as variáveis foi realizada pelo teste de Correlação de Pearson ou de Spearman, com nível de significância de  $p < 0,05$ .

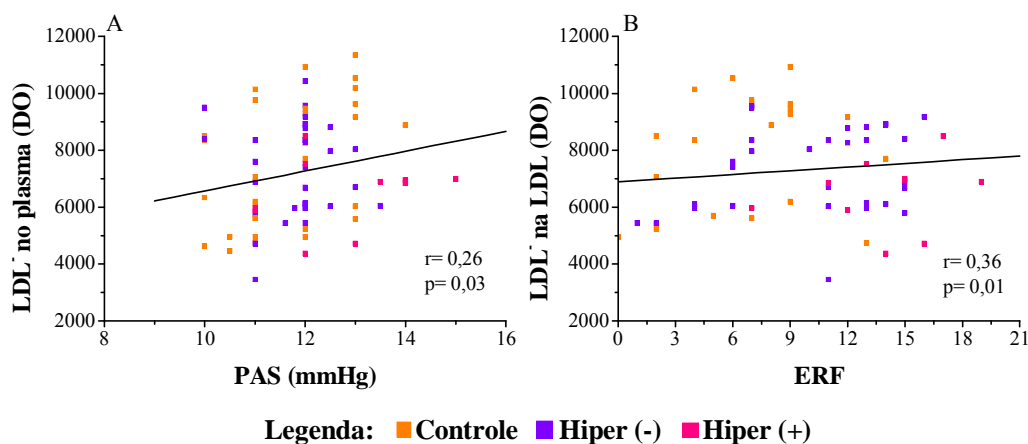
Verificamos ainda que, após a normalização pelo colesterol, o conteúdo de LDL<sup>-</sup> no plasma apresentou correlação significativa e positiva com a LDL<sup>-</sup> presente na LDL mais densa ( $r = 0,32$  e  $p = 0,01$ ) (**Gráfico 8**).

**Gráfico 8:** Correlação entre a geração de LDL<sup>-</sup> no plasma e LDL<sup>-</sup> na LDL mais densa.

$n = 73$  indivíduos. LDL: lipoproteína de baixa densidade, LDL<sup>-</sup>: lipoproteína de baixa densidade eletronegativa. A análise das correlações entre as variáveis foi realizada pelo teste de Correlação de Pearson ou de Spearman, com nível de significância de  $p < 0,05$ .

Portanto, sabendo-se que o conteúdo de LDL<sup>-</sup> no plasma, na LDL total e nas sub-frações de LDL apresentou correlação com as suas formas normalizadas pelas proteínas e colesterol, passamos a estabelecer correlações entre estas variáveis e os parâmetros clínicos, de consumo, de composição corporal e bioquímicos. Para estas correlações consideramos todos os indivíduos, independente do grupo de estudo ao qual pertenciam.

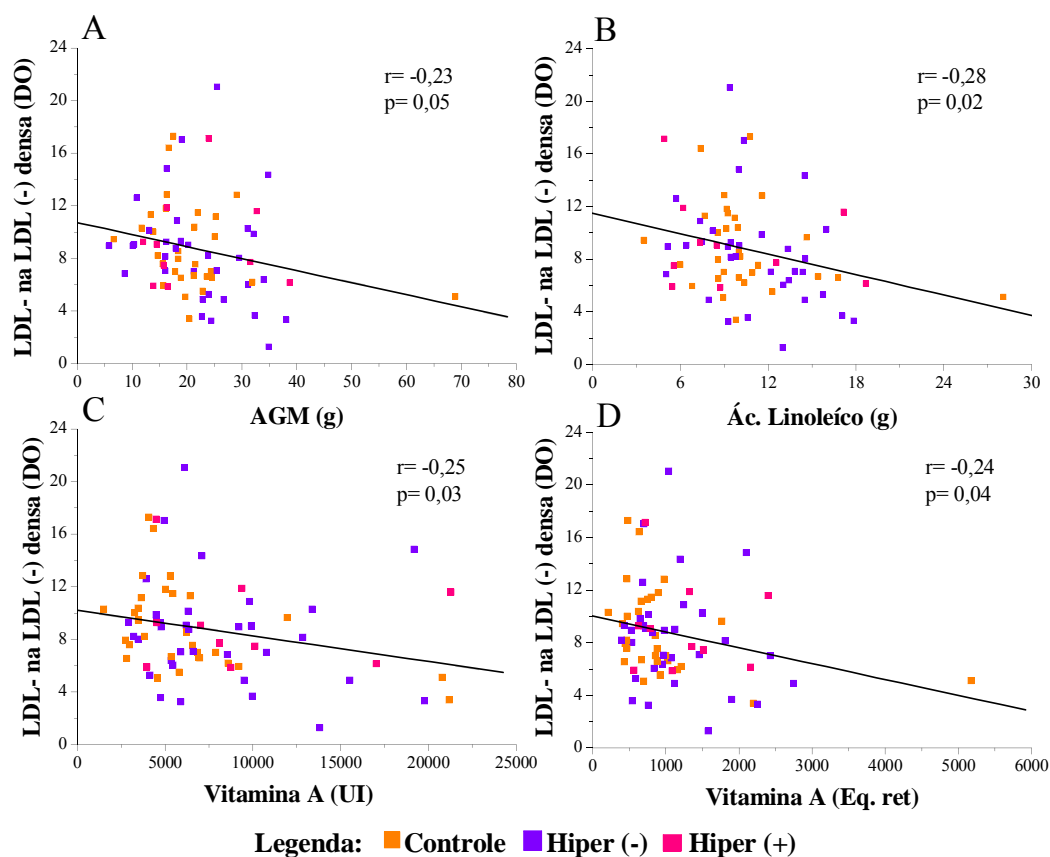
Neste sentido, correlações entre o conteúdo de LDL<sup>-</sup> no plasma e na LDL total foram estabelecidas com alguns indicadores de risco cardiovascular. O **Gráfico 9(A-B)** mostra correlações positivas entre PAS e LDL<sup>-</sup> no plasma ( $r = 0,26$  e  $p = 0,03$ ) e entre o Escore de Risco de *Framingham* e a geração de LDL<sup>-</sup> na LDL ( $r = 0,36$  e  $p = 0,01$ ). A geração de LDL<sup>-</sup> nas sub-frações de LDL e a concentração de auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup> não apresentou correlação com os parâmetros clínicos e de risco cardiovascular.

**Gráfico 9:** Correlações entre parâmetros clínicos e geração de LDL<sup>-</sup> no plasma e na LDL.

$n=73$  indivíduos. LDL: lipoproteína de baixa densidade, LDL<sup>-</sup>: lipoproteína de baixa densidade eletronegativa, PAS: pressão arterial sistólica, ERF: escore de risco de Framingham. A análise das correlações entre as variáveis foi realizada pelo teste de Correlação de Pearson ou de Spearman, com nível de significância de  $p < 0,05$ .

Quando analisamos os dados de consumo alimentar, verificamos que houve correlações negativas entre o consumo bruto de AGM ( $r = -0,23$  e  $p = 0,05$ ), ácido linoléico ( $r = -0,28$  e  $p = 0,02$ ), vitamina A (UI) ( $r = -0,25$  e  $p = 0,03$ ) e vitamina A (Eq. ret) ( $r = -0,24$  e  $p = 0,04$ ) com a geração de LDL<sup>-</sup> na LDL menos densa [Gráfico 10(A-D)]. Entretanto, não encontramos correlações entre as variáveis de consumo e a geração de LDL<sup>-</sup> no plasma, na LDL total e na LDL mais densa, nem com os auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup> no plasma.

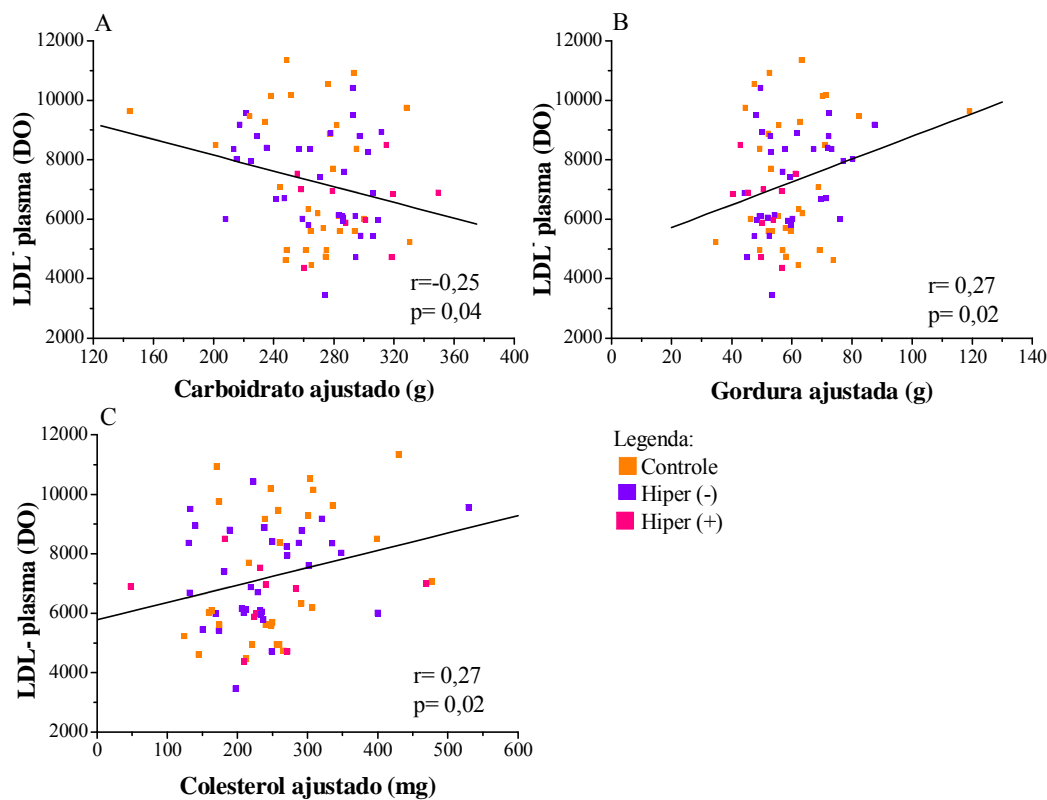
**Gráfico 10:** Correlações entre variáveis de consumo e geração de LDL<sup>-</sup> na LDL menos densa.



n= 73 indivíduos. LDL: lipoproteína de baixa densidade, LDL<sup>-</sup>: lipoproteína de baixa densidade eletronegativa, AGM: ácido graxo monoinsaturado. A análise das correlações entre as variáveis foi realizada pelo teste de Correlação de Pearson ou de Spearman, com nível de significância de  $p < 0,05$ .

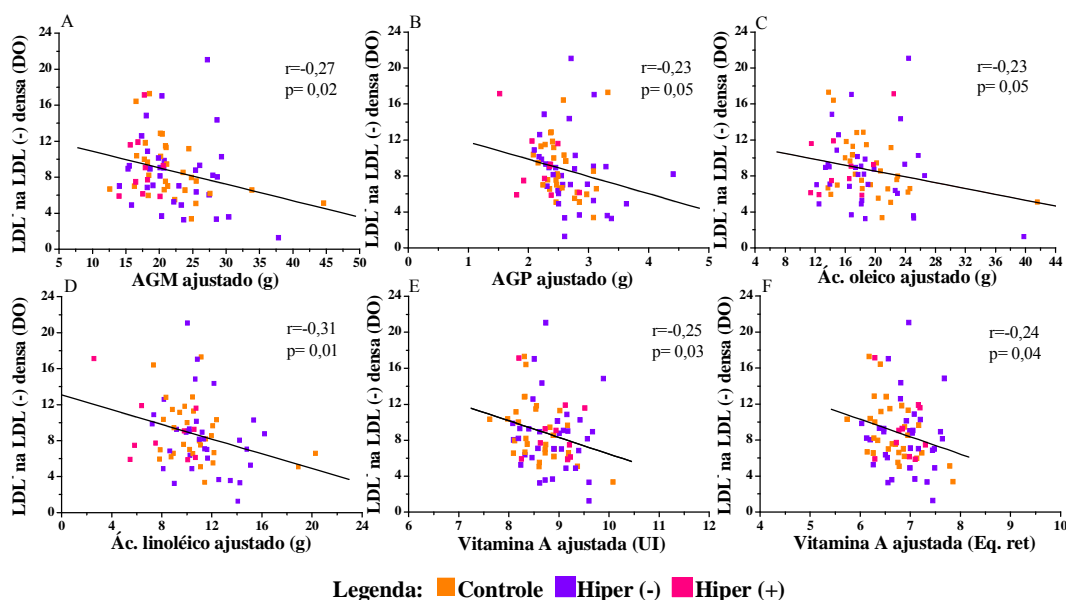
Após o ajuste pela energia, observamos correlação negativa entre o consumo de carboidratos ( $r = -0,25$  e  $p = 0,04$ ) e correlação positiva entre gorduras ( $r = 0,27$  e  $p = 0,02$ ) e colesterol ( $r = 0,27$  e  $p = 0,02$ ) com LDL<sup>-</sup> no plasma [Gráfico 11(A-C)]. Correlações negativas foram obtidas entre o consumo de AGM ( $r = -0,27$  e  $p = 0,02$ ), AGP ( $r = -0,23$  e  $p = 0,05$ ), ácido oléico ( $r = -0,23$  e  $p = 0,05$ ), ácido linoléico ( $r = -0,31$  e  $p = 0,01$ ), vitamina A (UI) ( $r = -0,25$  e  $p = 0,03$ ) e vitamina A (Eq ret) ( $r = -0,24$  e  $p = 0,04$ ) com a geração de LDL<sup>-</sup> na LDL menos densa [Gráfico 12(A-F)].

**Gráfico 11:** Correlações entre variáveis de consumo ajustadas pela energia e geração de LDL no plasma.



n= 73 indivíduos. LDL: lipoproteína de baixa densidade eletronegativa. Os dados de consumo alimentar foram avaliados sob a forma ajustada pela energia. A análise das correlações entre as variáveis foi realizada pelo teste de Correlação de Pearson ou de Spearman, com nível de significância de  $p < 0,05$ .

**Gráfico 12:** Correlações entre variáveis de consumo ajustadas pela energia e geração de LDL<sup>-</sup> na LDL menos densa.

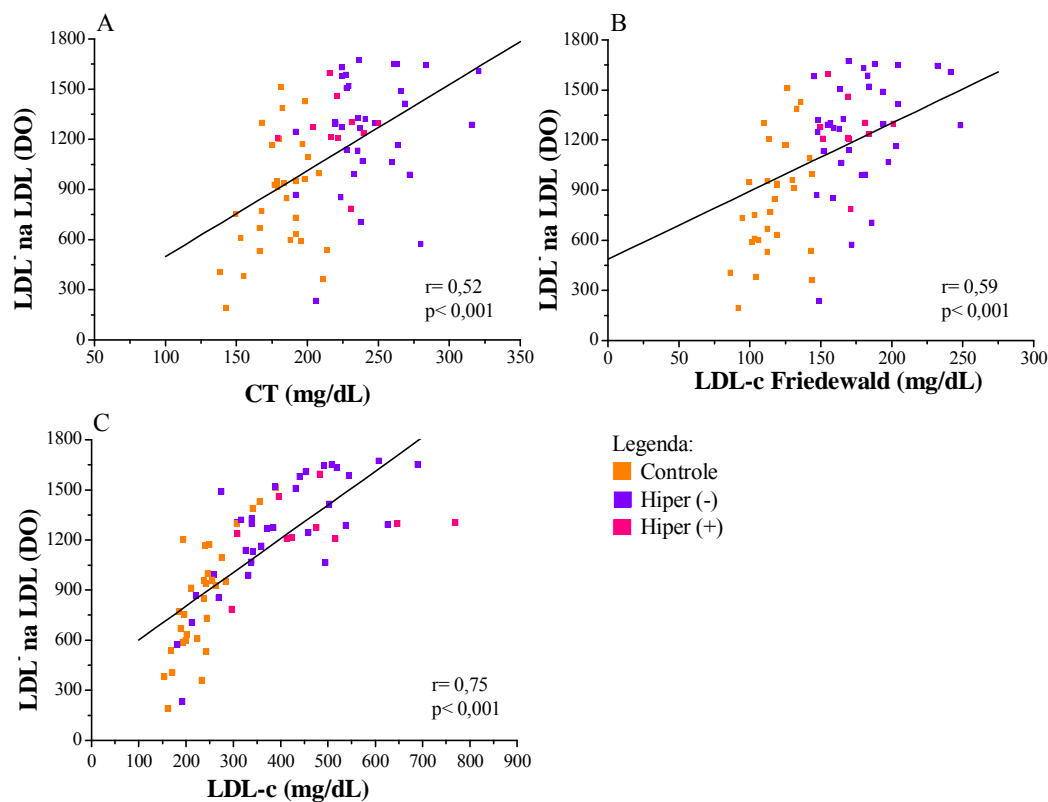


n= 73 indivíduos. LDL<sup>-</sup>: lipoproteína de baixa densidade eletronegativa, AGM: ácido graxo monoinsaturado, AGP: ácido graxo poliinsaturado. Os dados de consumo alimentar foram avaliados sob a forma ajustada pela energia. A análise das correlações entre as variáveis foi realizada pelo teste de Correlação de Pearson ou de Spearman, com nível de significância de  $p < 0,05$ .

As variáveis antropométricas não mostraram correlação com LDL<sup>-</sup> no plasma, na LDL total e nas sub-frações de LDL avaliados, nem com os auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup> no plasma. Entretanto, observamos uma tendência de correlação positiva entre porcentagem de gordura corporal e geração de LDL<sup>-</sup> na LDL ( $r = 0,23$  e  $p = 0,05$ ).

Em relação ao perfil lipídico, observamos correlação positiva do colesterol total e do colesterol associado à LDL, calculado pela fórmula de Friedewald e analisado na lipoproteína isolada com LDL<sup>-</sup> na LDL total ( $r = 0,52$  e  $p < 0,001$ ;  $r = 0,59$  e  $p < 0,001$ ;  $r = 0,75$  e  $p < 0,001$ ; respectivamente) [Gráfico 13(A-C)]. Ao contrário, a geração de LDL<sup>-</sup> na LDL mais densa mostrou correlação negativa com o colesterol associado à HDL ( $r = -0,26$  e  $p = 0,04$ ).

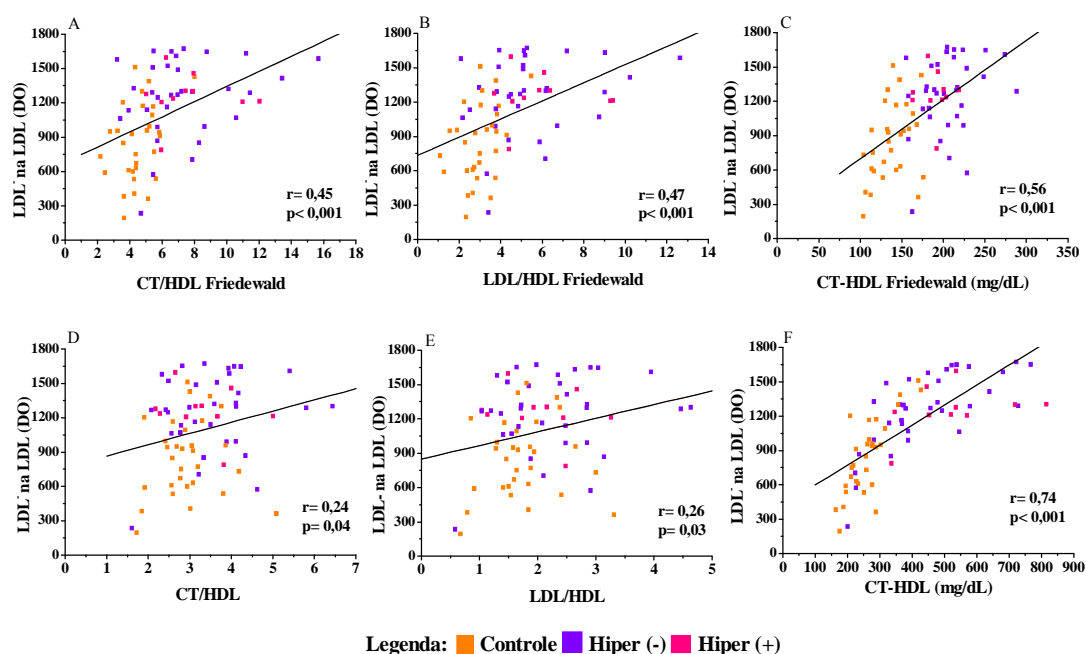
**Gráfico 13:** Correlações entre colesterol total e LDL-c (segundo fórmula de Friedewald e LDL-c na lipoproteína isolada) com geração de LDL<sup>-</sup> na LDL.



n= 73 indivíduos. CT: colesterol total, LDL: lipoproteína de baixa densidade, LDL<sup>-</sup>: lipoproteína de baixa densidade eletronegativa. A análise das correlações entre as variáveis foi realizada pelo teste de Correlação de Pearson ou de Spearman, com nível de significância de  $p < 0,05$ .

Os índices de Castelli I e II e colesterol não associado à HDL, tanto pela fórmula de Friedewald ( $r = 0,45$  e  $p < 0,001$ ;  $r = 0,47$  e  $p < 0,001$ ;  $r = 0,56$  e  $p < 0,001$ ; respectivamente), quanto sob a forma isolada ( $r = 0,24$  e  $p = 0,04$ ;  $r = 0,26$  e  $p = 0,03$ ;  $r = 0,74$  e  $p < 0,001$ ; respectivamente) indicaram correlação positiva com a geração de LDL<sup>-</sup> na LDL total [Gráfico 14(A-F)].

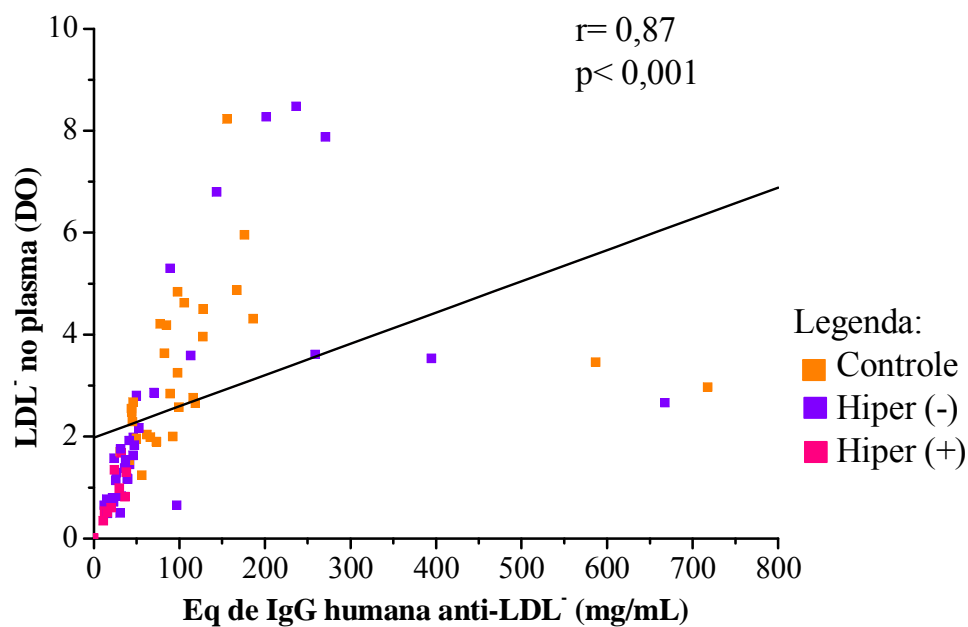
**Gráfico 14:** Correlações entre Índices de Castelli I e II e colesterol não associado à HDL, pela fórmula de Friedewald e na lipoproteína isolada, com geração de LDL<sup>-</sup> na LDL.



n= 73 indivíduos. CT: colesterol total, LDL: lipoproteína de baixa densidade, LDL<sup>-</sup>: lipoproteína de baixa densidade eletronegativa, HDL: lipoproteína de alta densidade. A análise das correlações entre as variáveis foi realizada pelo teste de Correlação de Pearson ou de Spearman, com nível de significância de  $p < 0,05$ .

Quando estabelecemos correlações entre o conteúdo de LDL<sup>-</sup> no plasma e seus auto-anticorpos, ambos normalizados pelas proteínas, obtivemos uma correlação significativa e positiva ( $r = 0,87$  e  $p < 0,001$ ) (**Gráfico 15**).



**Gráfico 15:** Correlação entre conteúdo de LDL<sup>-</sup> no plasma e seus auto-anticorpos.

n= 73 indivíduos. IgG: imunoglobulina G, LDL<sup>-</sup>: lipoproteína de baixa densidade eletronegativa. A análise das correlações entre as variáveis foi realizada pelo teste de Correlação de Pearson ou de Spearman, com nível de significância de  $p < 0,05$ .

## 6. DISCUSSÃO

As doenças cardiovasculares e, particularmente, a aterosclerose representam um grave problema de Saúde Pública, pois sua prevalência e incidência ao nível mundial atingem proporções epidemiológicas (OMS, 2006).

Neste contexto, além dos fatores de risco tradicionais, tais como, sexo, idade, tabagismo, dislipidemias, diabetes mellitus e HAS, propostos pelo estudo de *Framingham* (KANNEL et al., 2000) e que contribuíram para as recomendações do *National Cholesterol Education Program - NCEP* (NCEP, 2001) e diversos outros programas (SBC, 2001), destacam-se a participação dos processos oxidativos na iniciação e progressão da aterosclerose. Nas duas últimas décadas, inúmeras publicações têm demonstrado através de estudos experimentais (TERTOV et al., 1998 e XAVIER et al., 2004) e clínicos (DEJAGER et al., 1993 e CASTELLARNAU et al., 2000) que as modificações oxidativas da lipoproteína de baixa densidade participam de todas as etapas do desenvolvimento da aterosclerose. Além dessas observações, importantes avanços nos conhecimentos fisiopatológicos associados à aterogênese indicam que este processo é passível de modulação exógena, através de mudanças no estilo de vida (dieta, atividade física, tabagismo e consumo de álcool) e uso de fármacos (insulina, estatinas, inibidores de proteases, esteróides etc) (SBC, 2001).

Em sintonia a estes conhecimentos, os estudos pioneiros, realizados por AVOGARO et al. (1988) e CAZZOLATO et al. (1991), identificaram uma sub-fração de LDL com propriedades oxidativas *in vivo*. Esta fração, denominada **LDL<sup>o</sup>** tem sido detectada no plasma humano (SÁNCHEZ-QUESADA et al., 2003), de macacos (HODIS et al., 1994) e de coelhos (DAMASCENO, 2001) e, na presença de distintas patologias (doença arterial coronariana, diabetes mellitus tipo 1 e 2, entre outras). Considerando a presença da LDL<sup>o</sup> no processo aterosclerótico e o reduzido número de estudos sobre o papel fisiopatológico dessa partícula, diversos autores têm avaliado a possível modificação na geração da LDL<sup>o</sup> por fatores exógenos e endógenos. Portanto, o objetivo do nosso estudo

foi avaliar a influência do perfil nutricional (consumo e antropometria) e bioquímico sobre a geração da LDL<sup>c</sup> em indivíduos com diferentes níveis de risco cardiovascular.

Segundo KREISBERG e OBERMAN (2002), o perfil lipídico acompanhado de outros fatores de risco cardiovascular tradicionais exerce importante papel na prevenção e no tratamento da DAC. Neste contexto, as dislipidemias associadas ao acúmulo de colesterol, sobretudo na LDL, representam a forma mais importante de alteração lipídica (SBC, 2001). Estes dados confirmam nossos resultados, onde verificamos que os indivíduos dos grupos Hiper (-) e Hiper (+) apresentaram perfil mais aterogênico, que os indivíduos do grupo Controle, ou seja, altas concentrações de colesterol total, associadas ao aumento de colesterol presente na LDL. Estas observações foram confirmadas quando analisamos o perfil lipídico usando a fórmula de Friedewald e a análise direta das lipoproteínas.

Embora a concentração plasmática de colesterol associado à HDL avaliada pelo método de precipitação não tenha variado entre os grupos, podemos observar uma tendência do grupo Hiper (+) apresentar valores inferiores ao grupo Controle. Segundo ASSMANN et al. (2004), o efeito protetor da HDL apresentou associação com outros parâmetros de risco cardiovascular, tais como: aumento da produção e liberação de óxido nítrico, diminuição da expressão de moléculas de adesão e citocinas. A presença da enzima paraoxonase na HDL também previne a oxidação da LDL ou diminui os efeitos deletérios dos seus produtos de oxidação. Neste contexto e de acordo com o estudo de *Framingham*, a diminuição de 4,0 mg/dL de colesterol associado à HDL está relacionada ao aumento de 10% no risco de DAC (CASTELLI et al., 1986). Estas informações reforçam o caráter anti-aterogênico da HDL e confirmam que os indivíduos do grupo Controle apresentaram um perfil clínico de menor risco cardiovascular, quando comparados aos grupos Hiper (-) e Hiper (+).

Entretanto, ao analisarmos as lipoproteínas isoladas por ultracentrifugação, observamos que tanto o colesterol associado à VLDL e à LDL, quanto da HDL apresentou maior concentração nos grupos Hiper (-) e Hiper (+), ao compararmos com o grupo

Controle. Portanto, esses resultados reforçam o risco cardiovascular dos indivíduos hipercolesterolêmicos. Ao normalizar o colesterol presente nas lipoproteínas por suas respectivas concentrações de proteínas, verificamos que a diferença entre os grupos permaneceu apenas na HDL, onde o grupo Hiper (-) apresentou menor concentração de colesterol que o grupo Hiper (+).

Além do risco cardiovascular associado ao acúmulo de colesterol, o aumento na concentração de triacilgliceróis tem sido considerado um fator de risco independente para DAC (JEPPESSEN et al., 1998). De acordo com GOTTO (1998) esse risco cardiovascular varia em função da heterogeneidade das partículas ricas em TG. Em nosso estudo, verificamos que o grupo Hiper (-) apresentou valores de triacilgliceróis associados à VLDL, LDL e HDL superiores ao grupo Controle. Além disso, os triacilgliceróis associados à LDL no grupo Hiper (+) foram superiores ao grupo Controle, embora a concentração plasmática de triacilgliceróis não tenha apresentado diferença entre os grupos. De acordo com FRUCHART et al. (2004), o aumento da concentração de triacilgliceróis está associado ao acréscimo do risco de DAC, principalmente quando ocorre o enriquecimento de VLDL remanescentes associadas à apo CIII.

Segundo DIETSCHY (1997), o desenvolvimento das dislipidemias pode ser resultante do aumento no número de partículas ou do enriquecimento das partículas já existentes com componentes lipídicos. Em nosso estudo, os resultados indicaram que os indivíduos inclusos apresentaram dislipidemia associada ao enriquecimento lipídico das partículas lipoprotéicas e não devido ao aumento no número de unidades lipoprotéicas. Estas observações foram comprovadas pela falta de diferenças observadas entre os grupos, quando estes tiveram seu perfil lipídico normalizado pelas respectivas concentrações de proteínas, exceto para o colesterol associado à HDL e os triacilgliceróis associados à VLDL.

Considerando ainda que o risco cardiovascular associado ao perfil lipídico não se limita à análise dos componentes de uma única lipoproteína, diversos autores têm estabelecido relações entre as principais lipoproteínas, visando melhor identificar os

indivíduos quanto ao risco cardiovascular (CUI, 2001 e WANG et al., 2001). O perfil mais aterogênico dos grupos Hiper (-) e Hiper (+) foi reforçado pelos resultados superiores dos índices de Castelli I e II e colesterol não associado à HDL, em comparação ao grupo Controle, obtidos através da equação de Friedewald e das análises das lipoproteínas isoladas. De acordo com RIDKER et al. (2005) e KAWAMOTO et al. (2005), as relações entre os lipídeos e o colesterol não HDL são importantes ferramentas para o prognóstico de evento cardiovascular. Deste modo, estas relações são potenciais marcadores de risco para DAC.

Além da caracterização do perfil lipídico, das relações entre os lipídeos e do colesterol não associado à HDL, o risco cardiovascular dos grupos estudados foi avaliado também através do escore de *Framingham* e da classificação de risco para DAC. Neste sentido, confirmamos que o grupo Hiper (+) apresentou perfil clínico e bioquímico de maior risco, seguido pelos grupos Hiper (-) e Controle.

Baseando-se nas evidências experimentais e clínicas, aceita-se que as dislipidemias e as modificações oxidativas da LDL são fatores de risco bem estabelecidos para o desenvolvimento da DAC e, particularmente, para a aterosclerose. Segundo OLIVEIRA et al. (2006), a LDL<sup>-</sup> apresenta associação positiva com DAC, indicando que esta partícula pode ser um marcador importante para o alto risco de evento cardiovascular. Contrário aos autores acima, os resultados de detecção da LDL<sup>-</sup> no plasma, obtidos em nosso estudo, não apresentaram variabilidade significativa entre os grupos, quando analisados diretamente. Quando estes valores foram normalizados pelas proteínas totais e colesterol plasmáticos, o risco do grupo Hiper (+) também não foi evidenciado em relação aos grupos Controle e Hiper (-). De acordo com BINDER et al. (2005), a utilização de anticorpos monoclonais anti-LDL oxidada pode identificar epítomos em partículas distintas da LDL oxidada. Isso não significa um erro metodológico, mas sim, que a especificidade do anticorpo é capaz de reconhecer esse epítomo em diferentes partículas. Portanto, os resultados obtidos em nosso estudo reforçam essa possibilidade e indicam que a detecção de LDLox, utilizando anticorpos monoclonais, precisa ser interpretada com bastante cautela, sobretudo quando a presença de LDLox é avaliada diretamente no plasma. Estas observações são reforçadas

pelos resultados obtidos por BARROS et al. (2006) e DAMASCENO (comunicação pessoal) que monitoraram o conteúdo de LDL<sup>-</sup> no plasma em indivíduos com diferentes níveis de risco cardiovascular e também não encontraram diferenças significativas entre os grupos.

É importante destacar que as diferenças dos nossos resultados, quando comparados a outros estudos, podem estar associadas às distintas metodologias aplicadas. A maioria dos estudos de detecção de LDL<sup>-</sup> no plasma baseou-se nas técnicas de cromatografia líquida (HPLC e FPLC) (SEVANI et al., 1997 e SÁNCHEZ-QUESADA et al., 2003), cujas limitações em relação à utilização de anticorpos monoclonais são: I - especificidade e sensibilidade; II – análise simultânea de grande número de amostras; III – reduzido tempo de análise por amostra e IV – detecção direta em diferentes fluidos biológicos.

Embora nossos resultados não tenha mostrado alteração na geração de LDL<sup>-</sup> no plasma dos indivíduos com diferentes níveis de risco cardiovascular, podemos observar correlação positiva entre a pressão arterial sistólica e a detecção de LDL<sup>-</sup> no plasma. Segundo FROSTEGARD et al. (2003), indivíduos hipertensos apresentaram maior concentração de LDLox circulante, quando comparados aos normotensos. Este fato pode ser explicado pela diminuição da biodisponibilidade de óxido nítrico com, conseqüente, disfunção endotelial (YUNG, 2006).

Considerando as diferenças metodológicas e visando identificar a real importância da LDL<sup>-</sup> no risco cardiovascular realizamos o monitoramento dessa partícula diretamente na LDL. Os resultados obtidos demonstraram que os grupos Hiper (-) e Hiper (+) apresentaram conteúdo de LDL<sup>-</sup> superior ao grupo Controle. Destacamos que esta é a primeira vez que se detecta LDL<sup>-</sup> diretamente na partícula de LDL total usando um anticorpo monoclonal. Estes resultados reforçam as observações descritas acima e indicam que o epítipo, presente na LDL, e reconhecido pelo anticorpo monoclonal pode também ser identificado em outras partículas presentes no plasma, conforme sugerido por PALINSKI et al., (1995, 1996).

A utilização desses marcadores é reforçada pelos nossos resultados, onde o conteúdo de LDL<sup>-</sup> na LDL obteve correlação positiva com o escore de risco de *Framingham*, que leva em consideração os fatores de risco tradicionais e está diretamente relacionado com o risco cardiovascular individual. Com isso mostramos uma concordância entre a presença de fatores de risco pré-estabelecidos com a geração de LDL<sup>-</sup> nos indivíduos independentes do grupo de estudo.

Portanto, a detecção de LDL<sup>-</sup> na LDL, independente da metodologia utilizada, associa esta partícula ao prognóstico negativo de diversas afecções, tais como, DAC (OLIVEIRA et al., 2006), hipercolesterolemia familiar (BENÍTEZ et al., 2004), diabetes (MORO et al., 1998 e YANO et al., 2004) e artrite reumatóide (DAI et al., 1997).

O possível mecanismo que explica o aumento da geração de LDL<sup>-</sup> em indivíduos com DAC não é totalmente esclarecido. Segundo YOLOGLU et al. (2005), nos indivíduos dislipidêmicos, as partículas de LDL circulante, possivelmente, estão mais expostas à oxidação, do que em indivíduos normolipidêmicos e, portanto, a presença de um elevado número de partículas lipoprotéica com capacidade pró-inflamatória contribuiria para o aumento da disfunção endotelial e, conseqüentemente, ampliação do risco cardiovascular.

Neste contexto, a interação da LDL<sup>-</sup> com as células endoteliais promove a liberação do fator estimulador de colônia de granulócito/macrófago que favorecem o aumento da formação de células espumosas, ampliando o estresse oxidativo na íntima e modificando as características qualitativas e de composição da matriz extracelular no ateroma (BENITÉZ et al., 2006).

TOSHIMA et al. (2000) verificaram que a LDL modificada por oxidação, denominada LDLox, é um importante fator aterogênico, pois foi observado em maior concentração nos indivíduos com doença arterial coronariana em comparação aos indivíduos controle. Segundo esses mesmos autores, a ausência de associação com HAS, colesterol plasmático, tabagismo e sexo, sugeriu que a LDLox apresenta-se como um fator de risco independente para DAC.

Ao contrário dos autores acima, em nosso estudo observamos que houve correlação positiva entre a concentração de colesterol total e colesterol associado à LDL, determinados pela equação de Friedewald ou sob a forma isolada, com a geração de LDL<sup>-</sup> na LDL. SHOJI et al. (2000) e FAVIOU et al. (2005) acharam resultados semelhantes em relação à geração de LDLox, onde esta partícula teve importante associação com DAC, bem como com o prognóstico clínico dos indivíduos hipercolesterolêmicos, principalmente aqueles com elevado colesterol associado à LDL.

Obtivemos ainda correlação positiva entre as relações colesterol total/HDL, LDL/HDL e colesterol não HDL, obtidos através da equação de Friedewald e sob a forma isolada, com a LDL<sup>-</sup> na LDL. Estes resultados reforçam o poder aterogênico da partícula de LDL<sup>-</sup> e confirmam a associação inversa entre colesterol presente na HDL e risco para doença cardiovascular previamente estabelecida (ASSMANN et al., 2004).

Considerando ainda que as evidências epidemiológicas demonstram que a avaliação do colesterol total ou associado à LDL não representam os melhores indicadores bioquímicos de risco cardiovascular (FRUCHART et al., 2004), o monitoramento das sub-frações de LDL vem sendo tornando uma importante ferramenta analítica e clínica. Neste sentido, diversos autores têm investigado o potencial aterogênico das sub-frações de LDL (AUSTIN et al., 1988 e SEVANIAN et al., 1996).

A LDL é uma partícula heterogênea, associada a diferentes graus de risco cardiovascular. De acordo com o tamanho, ela pode ser dividida em duas grandes populações: Fenótipo A e Fenótipo B. É bem estabelecido que o aumento de partículas pequenas e densas (Fenótipo B) em comparação das LDL grandes e leves (Fenótipo A) confere um risco cardiovascular elevado (AUSTIN et al, 1988). Esta característica pode estar relacionada à presença de maior quantidade de LDL<sup>-</sup> na sub-fração mais densa da LDL. De acordo com O'BRIEN e CHANT (1994), indivíduos com maior conteúdo de partículas de LDL pequenas e densas apresentaram maior produção de apo B, menor *clearance* de LDL e aumento na susceptibilidade à oxidação.



Neste sentido, os resultados obtidos em nosso estudo indicaram que o conteúdo de LDL<sup>-</sup> nas sub-frações mais e menos densa não apresentou variação significativa entre os grupos de estudo. Entretanto, quando esses resultados foram normalizados pela concentração de colesterol das respectivas sub-frações, verificamos que o conteúdo de LDL<sup>-</sup> na LDL mais densa no grupo Controle foi superior ao observado no grupo Hiper (-). Resultados semelhantes foram previamente encontradas por SÁNCHEZ-QUESADA et al. (2002), em estudo sobre a compartimentalização da LDL<sup>-</sup>. Estes autores verificaram que esta partícula, quando avaliada em indivíduos normocolesterolêmicos, esteve mais presente na sub-fração mais densa, enquanto que os indivíduos com hipercolesterolemia familiar apresentaram perfil inverso. É provável que as diferenças entre o conteúdo de LDL<sup>-</sup> nas sub-frações encontradas no presente estudo e, possivelmente, pelos autores acima seja um reflexo da variação do número de partículas de colesterol nestas sub-frações.

Além da comparação da distribuição de LDL<sup>-</sup> nas sub-frações de LDL entre os três grupos de estudo, avaliamos também o comportamento dessa partícula entre as sub-frações dentro de cada grupo. Por meio dessa análise, observamos que os grupos Controle e Hiper (-) apresentaram maior conteúdo de LDL<sup>-</sup> na sub-fração mais densa. Portanto, esses resultados reforçam a associação do Fenótipo B com o risco cardiovascular e indicam que o potencial aterogênico das partículas menores e mais densas tem relação com o conteúdo de LDL<sup>-</sup> presente nesta sub-fração.

Quando avaliamos os indivíduos independentes do risco cardiovascular, verificamos que a LDL<sup>-</sup>, sob a forma isolada ou normalizada pelas respectivas concentrações de colesterol ou proteínas esteve mais presente na sub-fração de LDL mais densa, quando comparada à sub-fração menos densa. Embora nossos resultados mostrem consistência com o risco clínico, podemos observar que a avaliação da distribuição de LDL<sup>-</sup> nas diferentes sub-frações de LDL tem fornecido resultados conflitantes na literatura. Segundo SEVANIAN et al. (1996), a LDLox localizou-se, prioritariamente, na LDL mais densa. Ao contrário, CHAPPEY et al. (1995) encontraram uma distribuição bimodal, ou seja, partículas de LDL<sup>-</sup> presentes tanto na LDL mais densa, quanto na menos densa. Em adição, verificamos também que após a normalização pelo colesterol, o conteúdo de LDL<sup>-</sup> no

plasma apresentou correlação positiva com a LDL<sup>-</sup> presente na LDL mais densa, embora a comparação entre os dados de LDL<sup>-</sup> no plasma e na LDL mais densa não tenham apresentado diferença significativa entre os grupos. Apesar dos aspectos contraditórios existentes na literatura, os resultados do presente estudo sugerem que, independente do perfil clínico, a LDL<sup>-</sup> tem associação com as partículas mais aterogênicas, ou seja, com o Fenótipo B.

Atualmente, aceita-se que a aterosclerose seja caracterizada como uma lesão arterial contendo colesterol, fibrose e componentes inflamatórios. Estes últimos são consistentes com a presença de macrófagos e linfócitos T e anticorpos anti-lipoproteínas modificadas oxidativamente. Apesar disso, o envolvimento de fatores imunológicos ateroprotetores e pró-aterogênicos indica que diferentes mecanismos efetores podem modular o processo aterogênico em sentidos distintos (CALIGIURI et al., 2002). Portanto, a natureza imunológica da aterogênese vem sendo amplamente investigada, pois dados disponíveis tanto indicam efeitos protetores (FUKUMOTO et al., 2000 e SHOJI et al., 2000), quanto deletérios (INOUE et al., 2001 e MONACO et al., 2001) dos anticorpos anti-LDLox no desenvolvimento da aterosclerose.

Assim como nos estudos descritos acima, realizamos o monitoramento dos auto-anticorpos anti-LDL modificada oxidativamente. Embora não tenha sido visto diferença significativa no conteúdo de auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup> entre os grupos de estudo, FAVIOU et al. (2005) verificaram que os anticorpos anti-LDLox, nos indivíduos com angina instável ou estável, apresentaram concentração superior do que no grupo saudável, sugerindo um potencial efeito negativo destes anticorpos. Mais recentemente, OLIVEIRA et al. (2006) e SIQUEIRA et al. (2006) verificaram em indivíduos com DAC concentrações de anticorpos anti-LDL<sup>-</sup> superiores ao grupo controle. Entretanto, BARROS et al. (2005) encontraram perfil inverso em crianças e adolescentes, onde o grupo normocolesterolêmico teve maior concentração de auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup>, quando comparado aos indivíduos com hipercolesterolemia, com ou sem história familiar de evento cardiovascular agudo.

Apesar do conteúdo de auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup> não ter apresentado diferença entre os grupos, existe a possibilidade de ter ocorrido aumento da geração de imunocomplexos no plasma, principalmente nos grupos Hiper (-) e Hiper (+) que apresentaram perfil mais aterogênico que o grupo Controle, conforme proposto anteriormente por BARROS et al. (2006). Outra explicação para a semelhança entre os grupos pode estar relacionada às diferenças individuais, pois sabe-se que a resposta imunológica frente à presença do antígeno, é altamente heterogênea, resultando não somente na geração de diferentes classe de imunoglobulinas, mas também na especificidade e afinidade com o epítopo (ROSSI et al., 2003).

Considerando que a resposta imune mediada pela LDL<sup>-</sup> pode modificar a evolução da aterosclerose, verificamos que a correlação entre antígeno e anticorpo, ou seja, entre a geração de LDL<sup>-</sup> e seus auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup> no plasma, apresentou-se de forma positiva e significativa. Correlação semelhante foi previamente encontrada por FAVIOU et al. (2005) ao avaliarem a geração de LDLox e seus auto-anticorpos, em indivíduos com DAC. Contrariando a estes resultados, ISLAM et al. (1999) obtiveram correlação negativa entre auto-anticorpos anti-LDLox com seus imunocomplexos, sugerindo que uma excessiva formação de LDLox iria saturar os sítios de ligação do anticorpos específicos, reduzindo estes na circulação. Perfil semelhante foi visto por SHOJI et al. (2000), quando verificaram correlação negativa entre anticorpo anti-LDLox com LDLox no plasma, confirmando a hipótese de que o anticorpo tem importante papel no *clearance* da LDLox na circulação.

Embora os auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup> tenham apresentado correlação com a LDL<sup>-</sup> no plasma, estes parecem representar um potencial fator de risco cardiovascular independente, pois não se correlacionaram com outros fatores de risco. De acordo com OLIVEIRA et al. (2006) o total da massa lipídica na circulação não é um fator determinante para a geração de anticorpos específicos. Estas observações foram previamente fundamentas por AHMED et al. (1999) e ROSSI et al. (2003), que também não encontraram associação entre a concentração de anticorpos anti-LDLox e a doença arterial coronariana. Ao contrário, TINAHONES et al. (2005), verificaram que a geração de anticorpo anti-LDLox teve relação inversa com a presença de aterosclerose. Portanto,

verifica-se que o papel dos auto-anticorpos anti-LDL modificada oxidativamente ainda deve ser investigado.

Desde os estudos clássicos realizados por Anitschkow (FINKING et al., 1997), aceita-se que componentes da dieta têm ação importante no desenvolvimento, na prevenção e no tratamento das doenças cardiovasculares. Enquanto o colesterol (KRATZ, 2005), os ácidos graxos saturados e os ácidos graxos *trans* estimulam o processo aterogênico (BAER et al., 2004); o consumo de fibras, ácidos graxos monoinsaturados (ômega 9) e poliinsaturados (ômega 3 e 6) (BROWN e HU, 2001; RAJARAM et al., 2001; HARRIS e BULCHANDANI, 2006; IGNARRO et al., 2007) modulam o metabolismo lipídico e, conseqüentemente, o risco cardiovascular. Além do papel bem estabelecido de alguns nutrientes sobre o processo aterogênico, a participação das proteínas isoladas da soja (isoflavonas) e do leite (caseína) (DAMASCENO et al., 2000; DAMASCENO, 2001; DAMASCENO et al., 2007), dos componentes fenólicos (ZERN e FERNANDEZ, 2005), dos ésteres de fitosteróis (LOTTENBERG et al., 2002) e dos antioxidantes (HENNING et al., 2001; FREI, 2004; PISAVOS et al., 2005) têm confirmado que componentes dietéticos exercem efeito importante no desenvolvimento da aterosclerose.

Neste sentido, avaliamos o consumo dos indivíduos por meio de um questionário quantitativo de frequência alimentar (QQFA) validado e calibrado para a população adulta brasileira, que possibilitou analisar o consumo habitual dos últimos doze meses. A ingestão reduzida de carboidratos observada no grupo Controle reforça o perfil alimentar positivo deste grupo, quando comparado ao grupo Hiper (+). De acordo com WOOD et al. (2006), dietas restritas em carboidratos, sobretudo refinados, favorecem a redução de colesterol e triacilgliceróis plasmático. Ao contrário, uma dieta rica em carboidratos provoca hipertrigliceridemia, aumentando o risco cardiovascular associado ao estímulo na atividade da CETP, que contribui para a transferência de colesterol da HDL para a LDL. Este evento está relacionado à geração de partículas pequenas de HDL, que apresentam um *clearance* plasmático bastante acelerado, com conseqüente redução do transporte reverso de colesterol (BARTER et al., 2003). Destacamos ainda que este mecanismo favorece a formação de partículas de LDL pequenas e densas, ou seja, mais aterogênicas (CHUNG et al., 1998).

Apesar do consumo de carboidratos no grupo Hiper (+) ter sido superior ao observado no grupo Controle, essa ingestão não teve associação com concentrações elevadas de triacilgliceróis neste grupo. É provável que este efeito não tenha sido observado devido ao fato de todos os grupos de estudo apresentarem consumo médio de carboidratos dentro das recomendações (45 a 65% do valor energético total diário) (DRI'S, 2002). Contrariando o impacto negativo dos carboidratos, observamos que o consumo deste nutriente teve correlação negativa com a geração de LDL<sup>-</sup> plasma. Destacamos que este é o primeiro estudo a avaliar a possível interação entre estes componentes e, portanto, deve ser confirmado por outras investigações.

Os principais nutrientes que influenciam a hipercolesterolemia são as gorduras saturadas e o colesterol, ao inibirem a atividade do receptor B/E hepático para LDL, fazendo com que o *clearance* desta partícula diminua, promovendo um aumento da sua concentração plasmática e acréscimo no risco cardiovascular do indivíduo (SPADY, 1999). Além dos fatores endógenos, a combinação dos diferentes componentes dietéticos contribui para as modificações nas concentrações de colesterol, embora os ácidos graxos saturados sejam, aproximadamente, duas vezes mais potentes em aumentar a concentração de colesterol plasmático, do que os ácidos graxos poliinsaturados em reduzi-lo (HAYES, 2000).

Dietas com alta concentração de AGS, gordura total e colesterol estão associadas com o aumento do risco de DAC em adultos saudáveis, sendo que este efeito pode ser explicado, em parte, pelo baixo conteúdo de fibras na dieta e presença de outros fatores de risco associados (ASCHERIO et al., 1996). Neste contexto, XU et al. (2006), verificaram relação do consumo de AGS, gordura total e AGM com a mortalidade por DAC, em índios americanos sem doença cardiovascular, independente de outros fatores de risco estabelecidos para doença coronariana. Embora o consumo de lipídeos totais ou de ácidos graxos individuais tenha sido semelhante entre os indivíduos inclusos no estudo, verificamos correlação positiva entre o consumo de gordura e de colesterol, normalizados pela energia, com a geração de LDL<sup>-</sup> no plasma, que também foi correlacionada com outros fatores de risco cardiovascular (pressão arterial sistólica).

De acordo com as recomendações propostas pelo NCEP (2001) para reduzir a incidência de DAC, devemos destacar o consumo de AGS abaixo de 7% das calorias totais, onde os alimentos com baixas concentrações de gordura devem ser priorizados. Enquanto os AGS apresentam-se como fatores dietéticos de risco para DAC, os AGM e, particularmente, o ácido oléico, mostram um efeito protetor importante em diversos estudos (REAVEN e WITZTUM, 1996; KRIS-ETHERTON, 1999 e RAJARAM et al., 2001). Vários autores mostram que dietas com alta concentração de AGM promovem redução do colesterol total e do colesterol associado à LDL, sem diminuir a concentração de colesterol associado à HDL e aumentar os triacilgliceróis plasmáticos (KRIS-ETHERTON, 1999 e BITTENCOURT et al., 2002). Outros potenciais mecanismos de ação dos AGM estão associados à redução da susceptibilidade oxidativa da LDL e da resposta inflamatória, inibindo a progressão da aterosclerose (REAVEN e WITZTUM, 1996 e SPADY, 1999). Segundo VACARESSE et al.(1999), o ácido oléico é capaz de ativar o receptor do fator de crescimento epidérmico, que participa da proliferação e diferenciação celular, e está envolvido no processo de reparo e remodelamento da parede vascular, em resposta a formação da placa de aterosclerose. Quando analisamos o consumo de nutrientes sem o efeito da energia, observamos que o grupo Hiper (-) apresentou maior consumo de AGM, quando comparado ao grupo Hiper (+). A ligação direta dos AGM com a proteção cardiovascular foi confirmada através da obtenção das correlações negativas entre o consumo de AGM e ácido oléico e a geração de LDL<sup>-</sup> na sub-fração menos densa da LDL, independente dos grupos de estudo.

De acordo com HOLUB e HOLUB (2004), vários estudos de intervenção, baseados no consumo de óleo de peixe (ricos em AGP), mostram associação inversa com o risco de DAC, independente da redução plasmática de colesterol. No grupo dos ácidos graxos poliinsaturados (AGP) temos o ácido linolênico (C:20:3  $\omega$ -3), ácido eicosapentanóico (EPA, 20:5  $\omega$ -3) e ácido docosahexanóico (DHA, 22:6  $\omega$ -3) que possuem efeito cardioprotetor via redução da arritmia cardíaca e da concentração de citocinas (interleucinas e TNF- $\alpha$ ), ação anti-trombótica associada à diminuição da atividade do PAF, melhora da função endotelial através da liberação de óxido nítrico, reduzindo assim a aterogênese e a inflamação sistêmica. Os resultados encontrados no presente estudo

reforçam estas observações, pois verificamos que o consumo de AGP nos grupos Controle e Hiper (-) foi superior ao encontrado no grupo Hiper (+). Quando analisamos esses nutrientes, após ajuste pela energia, encontramos correlação negativa com a geração de LDL<sup>-</sup> na sub-fração menos densa da LDL, considerando todos os indivíduos do estudo. O efeito dos AGP foi intensificado pela correlação negativa encontrada entre ácido linoléico (bruto e ajustado pela energia) com LDL<sup>-</sup> presente na LDL<sup>-</sup> menos densa, independente do perfil clínico dos indivíduos.

Visto que, o estresse oxidativo é o desequilíbrio entre a síntese de radicais livres e o sistema antioxidante, diversos autores têm monitorado este processo no desenvolvimento de patologias, tais como DAC e câncer, entre outras (MAYNE, 2003). Considerando ainda que a hipercolesterolemia tenha sido associada com o aumento do estresse oxidativo, analisamos também o consumo das vitaminas antioxidantes. No presente estudo, verificamos que a vitamina C foi o único nutriente antioxidante a apresentar perfil diferente entre os grupos. Destacamos que essa diferença refletiu o consumo de vitamina C no grupo Hiper (+) superior aos demais grupos. De acordo com WANNAMETHEE et al. (2006), o consumo de alimentos ricos em vitamina C apresentou associação inversa com proteína C reativa, fibrinogênio, fator de *von Willebrand* e ativador de plasminogênio, indicando efeito antiinflamatório e baixo índice de disfunção endotelial, em homens sem história de risco cardiovascular.

Suplementos de vitaminas antioxidantes podem reduzir o risco de aterosclerose por proteger a partícula de LDL da modificação oxidativa. Alta ingestão ou concentração plasmática elevada de vitamina C foi associada com redução do risco de infarto agudo do miocárdio (WANNAMETHEE et al., 2006). Ao contrário, LEE et al. (2004) sugeriram que altas doses de suplementação de vitamina C ( $\geq 300,0$  mg/dia) têm efeito pró-oxidante em mulheres. Estes autores justificaram seus resultados sugerindo que a vitamina C naturalmente presente nos alimentos está na sua forma equilibrada. Entretanto, a vitamina C, sob a forma de suplemento, apresenta-se inserida num complexo conjunto de agentes redox, podendo atuar como pró-oxidante. Apesar dessa possibilidade, o consumo médio de vitamina C no grupo Hiper (+) foi de 226,8 mg, ou seja, acima da recomendação proposta

pelas *Dietary Reference Intakes* - DRI's (NRC, 2000), mas inferior ao sugerido por LEE et al (2004).

Avaliando o possível efeito dos antioxidantes sobre a geração de LDL<sup>-</sup>, obtivemos, independente do risco cardiovascular, correlação negativa entre o consumo de vitamina A, bruto ou ajustado pela energia, com a geração de LDL<sup>-</sup> na sub-fração menos densa da LDL. De acordo com PALACE et al. (1999), vários estudos epidemiológicos sugerem que a vitamina A e os carotenóides são importantes fatores dietéticos que reduzem a incidência de doença cardiovascular, por serem eficientes antioxidantes encontrados nos tecidos.

Considerando-se a complexidade da avaliação do consumo alimentar, diversos estudos têm investigado não só o consumo de nutrientes, mas também de grupos de alimentos. FORNÉS et al. (2000), estudando a relação entre a frequência de consumo de alimentos e a concentração de lipoproteína plasmática, mostraram que o controle dietético pode reduzir os riscos de doenças cardiovasculares. Foi observado que o consumo de carnes processadas, aves, carnes vermelhas, ovos e leites e derivados correlacionou-se positivamente com as frações de colesterol presente na LDL, enquanto o consumo de frutas e hortaliças mostrou correlação inversa. Em nosso estudo, o grupo que apresentou maior consumo de leite e derivados foi o Hiper (+), confirmando o potencial efeito negativo destes alimentos na prevenção de DAC. De acordo com Damasceno (2000), o elevado consumo de caseína exerceu efeito positivo sobre a área da lesão aterosclerótica. Embora este estudo tenha sido conduzido em animais, CARROLL et al. (1995) verificaram que a caseína promoveu elevação na concentração de colesterol comparado ao consumo de isolado protéico da soja. Destacamos ainda que o grupo de leite e derivados representa uma importante fonte de colesterol e ácidos graxos saturados. Sobre os demais grupos de alimentos, em nosso estudo, não verificamos diferenças significativas.

Embora um dos objetivos deste estudo tenha sido avaliar a influência da dieta sobre a geração da LDL<sup>-</sup>, é importante destacarmos alguns pontos, pois avaliar o consumo alimentar é uma tarefa complexa e que envolve inúmeros fatores de confusão, tais como: I – Subestimação ou superestimação da ingestão de alimentos devido às falhas na memória



ou desinteresse do entrevistado em colaborar com a pesquisa; II – Tabelas de composição de alimentos incompletas e com dados nem sempre confiáveis; III – Nutrientes de interesse restritos a poucos alimentos; IV – Influência do diagnóstico atual no relato do consumo alimentar pregresso; V – Falta de padrões de referência de consumo alimentar confiáveis; VI – Falta de padronização nas preparações caseiras e VII – Possibilidade do entrevistador comprometer a qualidade da resposta.

Reforçando os pontos acima PEREIRA e KOIFMAN (1999) e SALVO e GIMENO (2002) relataram que os alimentos de consumo intermediário são recordados com maior dificuldade e, por mais que se utilize uma lista de alimentos extensa, esta pode ainda estar incompleta, de acordo com o hábito alimentar individual. Segundo MURATA (2000), existe relação entre as variações no padrão alimentar de diferentes populações e a prevalência de DAC e de seus fatores de risco. Apesar disso, os estudos intra-populacionais muitas vezes não conseguem demonstrar esta relação, devido às diferenças individuais de resposta à dieta e também pelas dificuldades em se obter dados fidedignos sobre o consumo alimentar (GLIKSMAN et al., 1993).

Enfatizamos que os pontos apresentados acima não invalidam os resultados obtidos neste estudo e, possivelmente, nem os apresentados por outros autores, mas reforçam a importância de se controlar, o máximo possível, estes vieses.

Além do consumo alimentar, o estado nutricional tem demonstrado influenciar os fatores de risco cardiovascular. É amplamente aceito que a obesidade representa um dos principais problemas de Saúde Pública dos países em desenvolvimento. Segundo LINNA et al. (2007), a redução de peso tem associação positiva com a concentração de LDLox. Perfil semelhante foi verificado por VANSAKARI et al. (2001), que encontraram tendência de correlação positiva entre gordura corporal e geração de LDLox. No presente estudo, não verificamos diferenças significativas entre os grupos, nem correlação das variáveis antropométricas (IMC, CC e % de gordura e massa magra) com a geração de LDL<sup>-</sup> no plasma, na LDL total e nas sub-frações de LDL e seus autoanticorpos. Quando todos os indivíduos foram avaliados, verificamos uma tendência ( $p = 0,05$ ) de correlação entre a

porcentagem de gordura corporal e geração de LDL<sup>-</sup> na LDL total. Acreditamos que as diferenças entre os grupos, assim como a obtenção de correlações significativas teriam existido se não tivéssemos adotado como critério de exclusão a obesidade, independente do grau de classificação.

## 7. CONCLUSÕES

Considerando os objetivos do presente estudo, os resultados obtidos nos permitem apresentar as seguintes conclusões:

- Os indivíduos dos grupos Hiper (-) e Hiper (+) apresentaram perfil lipídico mais aterogênico que os indivíduos do grupo Controle, devido aos valores superiores de colesterol total, colesterol associado à LDL, índice de Castelli I e Castelli II e colesterol não associado à HDL;
- O conteúdo de LDL<sup>-</sup> detectado no plasma apresentou correlação positiva com a LDL<sup>-</sup> na LDL (+) densa;
- A LDL<sup>-</sup> no plasma e na LDL total apresentam correlação positiva com fatores de risco clássicos para DAC (PAS e Escore de risco de *Framingham*);
- LDL<sup>-</sup>, sobretudo quando analisada na LDL, é um importante e sensível parâmetro bioquímico associado ao perfil lipídico;
- A sub-fração de LDL mais densa possui maior conteúdo de LDL<sup>-</sup>, indicando a potencial associação desta partícula com o Fenótipo B;
- Os auto-anticorpos anti-LDL<sup>-</sup> foram positivamente correlacionados com a LDL<sup>-</sup> no plasma;
- O consumo de gorduras e colesterol ao contrário do consumo de AGM, AGP, ácido oléico, ácido linoléico e vitamina A favorecem a formação de LDL<sup>-</sup>;
- A geração de LDL<sup>-</sup>, no plasma, na LDL total e nas sub-frações de LDL e seus auto-anticorpos não mostrou correlação significativa com os parâmetros antropométricos.

## **8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Ahmed E, Trifunovic J, Stegmayr B, Hallmans G, Lefvert AK. Autoantibodies against oxidatively modified LDL do not constitute a risk factor for stroke - A Nested Case-Control Study. *Stroke*. 1999;30:2541-6.

Armatruda JM, Linemeyer DL. Obesity. In: Felig P, Frohmann LA. *Endocrinology Metabolism*. 4 ed. USA: McGraw Hill; 2001. p.945-79.

Ascherio A, Rimm EB, Giovannucci EL, Spiegelman D, Stampfer M, Willet WC. Dietary fat and risk of coronary heart disease in men: cohort follow up study in the United States. *BMJ*. 1996;313:84-90.

Assmann G, Gotto AM. HDL Cholesterol and protective factors in Atherosclerosis. *Circulation*. 2004;15:III-8 – 14.

Austin MA, Breslow JM, Hennekens CH, Buring JE, Willet WC, Krauss RM. Low-density lipoprotein subclass patterns and the risk of myocardial infarction. *JAMA*. 1988;260:1917-21.

Avogaro A, Armigliato M, Cazzolato G, Caruso N, Boff G, Bittolo-Bon G, Tiengo. Lipid peroxidation and LDL modifications in nondiabetic patients with ischemic heart disease. *G Ital Cardiol*. 1996;26:169-75.

Avogaro P, Bittolo-Bon G, Cazzolato G. Presence of a modified low density lipoprotein in humans. *Atherosclerosis*. 1988;8:79-87.

Avogaro P, Cazzolato G, Bittolo-Bon G. Some questions concerning a small, more electronegative LDL circulating in human plasma. *Atherosclerosis*. 1991;91:163-71.

Baer DJ, Judd JT, Clevidence BA, Tracy RP. Dietary fatty acids affect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized crossover study. *Am J Clin Nutr.* 2004;79:969-73.

Barros MRAC, Bertolami MC, Abdalla DSP, Ferreira WP. Identification of mildly oxidized low-density lipoprotein (electronegative LDL) and its auto-antibodies IgG in children and adolescents hypercholesterolemic offsprings. *Atherosclerosis.* 2006;184(1):103-7.

Barter PJ, Brewer Jr HB, Chapman MJ, Hennekens CH, Rader DJ, Tall AR. Cholesteryl Ester Transfer Protein A Novel Target for Raising HDL and Inhibiting Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:160-7.

Benítez S, Camacho M, Bancells C, Vila L, Sánchez-Quesada JL, Ordóñez-Llanos J. Wide proinflammatory effect of electronegative low-density lipoprotein on human endothelial cells assayed by a protein array. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2006;1761(9):1014-21.

Benítez S, Ordóñez-Llanos J, Franco M, Marín C, Paz E, López-Miranda J, Otal C, Pérez-Jiménez F, Sánchez-Quesada JL. Effect of Simvastatin in Familial Hypercholesterolemia on the Affinity of Electronegative Low-Density Lipoprotein Subfractions to the Low-Density Lipoprotein Receptor. *Am J Cardiol.* 2004;93:414-20.

Benítez S, Villegas V, Bancells C, Jorba O, González-Sastre F, Ordóñez-Llanos J, Sánchez-Quesada JL. Impaired Binding Affinity of Electronegative Low-Density Lipoprotein (LDL<sup>-</sup>) to the LDL Receptor is related to Nonesterified Fatty Acids and Lysophosphatidylcholine Content. *Biochemistry.* 2004;43:15863-72.

Berliner JA, Heinecke JW. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radica Biol Med.* 1996;20(5):707-27.

Berliner JA, Territo MC, Sevanian A, Ramin S, Kim JA, Bamshad B et al. Minimally modified low density lipoprotein stimulates monocyte endothelial interactions. *J Clin Invest.* 1990;85:1260-6.

Binder CJ, Shaw PX, Chang MK, Boullier A, Hartvigsen K, Horkko S et al. The role of natural antibodies in atherogenesis. *Journal of Lipid Research.* 2005;46:1353-63.

Bittencourt PIHJ, Senna SM. Ácidos graxos e aterosclerose. In: Curi R, Pompéia C, Miyasaka CK, Procopio J. Entendendo as gorduras. Os ácidos graxos. Barueri: Manole; 2002. 539-54.

Block G, Coyle LM, Hartmen AM, Scoppa SM. Revision of dietary analysis software for the Health Habits and History Questionnaire. *American Journal of Epidemiology* 1994; 139:1190-6.

Botelho FV, Eneas LR, Cesar GC, Bizzotto CS, Tavares E, Oliveira FA, Gloria MB, Silvestre MP, Arantes RM, Alvarez-Leite JI. Effects of eggplant (*Solanum melongena*) on the atherogenesis and oxidative stress in LDL receptor knock out mice (LDLR<sup>-/-</sup>). *Food Chem Toxicol.* 2004;42(8):1259-67.

Brandão AC, Trindade DM, Pinhel MA, Anacleto AM, Godoy JMP, Godoy MF, Santos JE, Souza DRS. Avaliação do perfil lipídico na doença arterial periférica. *J Vasc Br.* 2005;4(2):129-36.

Brasil. Resolução n. 196, de 10 de outubro de 1996. Dispõe sobre as normas nacionais de ética em pesquisa com humanos. Brasília: Conselho Nacional de Saúde. Brasil; 1996.

Brown AA, Hu FB. Dietary modulation of endothelial function: implications for cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 2001;73:673-86.

Brown MS, Basu SK, Falk JR, Ho YK, Goldstein JL. The scavenger cell pathway for lipoprotein degradation: specificity of the binding site that mediates the uptake of negatively-charged LDL by macrophages. *J Supramol Struct.* 1980;13:67-81.

Caligiuri G, Nicoletti A, Poirier B, Hansson GK. Protective immunity against atherosclerosis carried by B cells of hypercholesterolemic mice. *The Journal of Clinical Investigation.* 2002;109(6):745-53.

Cardoso MA, Kida AA, Tomita LY, Stocco PR. Reproducibility and validity of a food frequency questionnaire among women of Japanese ancestry living in Brazil. *Nutr Res.* 2001;21:725-33.

Carroll KK, Kurowska EM. Soy consumption and cholesterol reduction: review of animal and human studies. *J Nutr.* 1995 Mar;125(3 Suppl):594S-7S.

Castellarnau C, Sánchez-Quesada JL, Benítez S, Rosa R, Caveda L, Vila L, Ordóñez-Llanos J. Electronegative LDL from normolipemic subjects induces IL-8 and monocyte chemotactic protein secretion by human endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:2281-7.

Castelli WP, Abbott RD, Mcnamara PM. Summary Estimates of Cholesterol used to predict Coronary heart Disease. *Circulation.* 1983;67(4):730-4.

Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PWF, Abbot RD, Kalousdian S, Kannel WN. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels: the Framingham Heart Study. *JAMA.* 1986;256: 2835-8.

Castro LCV, Franceschini SCC, Priore SE, Pelúzio MCG. Nutrição e doenças cardiovasculares: os marcadores de risco em adultos. *Rev Nutr.* 2004;17(3):369-77.

Cazzolato G, Avogaro P, Bittolo-Bom G. Characterization of a more electronegatively charged LDL subfraction by ion exchange HPLC. *Free Rad. Biol. Med.* 1991;11:247-53.

Cerioti L, Shibata T, Folmer B, Weiller BH, Roberts MA, de Rooij NF, Verpoorte E. Low-density lipoprotein analysis in microchip capillary electrophoresis systems. *Electrophoresis*. 2002;23(20):3615-22.

Chang YH, Abdalla DSP, Sevanian A. Characterization of cholesterol oxidation products formed by oxidative modification of low density lipoprotein. *Free Rad. Biol. Med.* 1997;2:202-14.

Chappey B, Myara I, Benoit MO, Mazière C, Mazière JC, Moatti N. Characteristics of ten charge-differing subfractions isolated from human native low-density lipoproteins (LDL). No evidence of peroxidative modifications. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1995;1259:261-70.

Chen M, Masaki T, Sawamura T. LOX-1, the receptor for oxidized low-density lipoprotein identified from endothelial cells: implications in endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Pharmacol Ther.* 2002;95:89-100.

Chung BH, Segrest JP, Franklin F. In vitro production of very low density lipoproteins and small, dense low density lipoproteins in mildly hypertriglyceridemic plasma: role of activities of lecithin: cholesterol acyltransferase, cholesteryl ester transfer protein and lipoprotein lipase. *Atherosclerosis*. 1998;141:209-225.

Chopra M, Thurnham DI. Antioxidants and lipoprotein metabolism. *Proc Nutr Soc.* 1999;58(3):663-71.

Criqui MH, Deneberg JO, Langer RD, Fronck A. The Epidemiology of Peripheral Arterial Disease: importance of identifying the population at risk. *Vasc Med.* 1997;2:221-6.

Cui E. Non-high density lipoprotein cholesterol as a predictor of cardiovascular mortality. *Arch Int Med* 2001; 161: 1413-19.



Dai L, Zhang Z, Winyard PG, Gaffney K, Jones H, Blake DR et al. A Modified Form of Low-Density Lipoprotein with increased electronegative charge is present in rheumatoid arthritis synovial fluid. *Free Radic Biol Med.* 1997;22(4):705-10.

Damasceno NRT. Influência das isoflavonas extraídas da soja na hipercolesterolemia e na aterosclerose experimental induzida pela caseína. [tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo; 2001.

Damasceno NRT, Apolinário E, Flauzino FD, Abdalla DSP. Soy isoflavones reduce electronegative low-density lipoprotein (LDL<sup>-</sup>) and anti-LDL<sup>-</sup> autoantibodies in experimental atherosclerosis. *Eur J Nutr. in press.* 2007.

Damasceno NRT, Goto H, Rodrigues FM, Dias CT, Okawabata FS, Abdalla DSP, Gidlund M. Soy protein isolate reduces the oxidizability of LDL and the generation of oxidized LDL autoantibodies in rabbits with diet-induced atherosclerosis. *J Nutr.* 2000;130(11):2641-7.

Damasceno NRT, Sevanian A, Apolinário E, Oliveira JMA, Fernandes I, Abdalla DSP. Detection of electronegative low density lipoprotein (LDL<sup>-</sup>) in plasma and atherosclerotic lesions by monoclonal antibody-based immunoassays. *Clinical Biochemistry.* 2006;39:28-38.

Dejager S, Bruckert E, Chapman MJ. Dense low density lipoprotein subspecies with diminished oxidative resistance predominance in combined hyperlipidemia. *J Lipid Res.* 1993;34:295-308.

Dietschy JM. Theoretical considerations of what regulates low-density-lipoprotein and high-density-lipoprotein cholesterol. *Am J Clin Nutr.* 1997;65:158S-95S.

DRI, Institute of Medicine, Dietary reference intakes for Energy, Carbohydrates, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein and Amino Acids (Macronutrients), <http://www.nap.edu>, copyright 2002, The National Academy of Science.

Ebrahim S, Papacosta O, Whincup P, Wannamethee G, Walter M, Nicolaides AN, Dhanjil S, Griffin M, Belcaro G, Rumley A, Lowe GDO. Carotid Plaque, Intima Media Thickness, Cardiovascular Risk Factors, and Prevalent Cardiovascular Disease in Men and Women. *American Heart Association*. 1999;30:841-50.

Emerson SL, Maranhão RC. Rapid, simple laser-light-scattering method for HDL participle sizing in whole plasma. *Clin Chem*. 2004;50(6):1086-8.

Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adults Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285:2486-97.

Fan J, Watanabe T. Inflammatory reactions in the pathogenesis of atherosclerosis. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. 2003;10(2):63-71.

Faviou E, Vourli G, Nounopoulos C, Zachari A, Dionyssiou-Asteriou A. Circulating oxidized low density lipoprotein, autoantibodies against them and homocysteine serum levels in diagnosis and estimation of severity of coronary artery disease. *Free Radical Research*. 2005;39(4):419-29.

Finking G, Hanke H. Nikolaj Aikolajewitsch Anitschkow (1885-1964) established the cholesterol-fed rabbit as a model for atherosclerosis research. *Atherosclerosis*. 1997;135:1-7.

Fletcher RH, Fletcher SW, Wagner EH. *Epidemiologia Clínica: Elementos Essenciais*. 3<sup>a</sup>. edição. São Paulo: Editora Artmed; 2003.

Fornés NS, Martins IG, Hernan M, Velásquez-Meléndez G, Ascherio A. Food frequency consumption and lipoproteins serum levels in the population of an urban area, Brazil. *Rev Saúde Pública*. 2000;34(4):380-7.

Frei B. Efficacy of dietary antioxidants to prevent oxidative damage and inhibit chronic disease. *J Nutr*. 2004;134:3196S-8S.

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*. 1972;18:499-502.

Frostegard J, Nilsson J, Haegerstrand A, Hamsten A, Wigzell H, Gidlund MA. Oxidized low density lipoprotein induces differentiation and adhesion of human monocytes and the monocytic cell line U937. *Proc Natl Acad Sci U S A - Medical Sciences*. 1990;87:904-8.

Frostegard J, Wu R, Lemne C, Thulin T, Witztum JL, Faire U. Circulating oxidized low-density lipoprotein is increased in hypertension. *Clinical Science*. 2003;105:615-20.

Fruchart JC, Nierman MC, Stroes ESG, Kastelein JJP, Duriez P. New risk factors for atherosclerosis and patient risk assessment. *Circulation*. 2004;109(suppl III):15–19.

Fukumoto M, Shoji T, Emoto M, Kawagishi T, Okumo Y, Nishizawa Y. Antibodies against oxidized LDL and carotid artery intima-media thickness in a healthy population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:703-7.

Gliksman MD, Lazarus R, Wilson A. Differences in serum lipids Australian children: is diet responsible? *Int J Epidemiol*. 1993;22(2):247-54.

Gottlieb MG, Bonardi G, Moriguchi EH. Fisiopatologia e aspectos inflamatórios da aterosclerose. *Scientia Medica*. 2005;15(3):203-7.

Gotto AM Jr. Triglyceride as a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 1998;82(9A):22Q-5Q.

Greenland P, Abrams J, Aurigemma GP, Bond MG, Clark LT, Criqui MH, et al. Prevention Conference V: beyond secondary prevention: identifying the high-risk patient for primary prevention: noninvasive tests of atherosclerotic burden: Writing Group III. *Circulation.* 2000;101:e16-e22.

Grundy SM, Balady GJ, Criqui MH, Fletcher G, Greenland P, Hiratzka LF, et al. Primary prevention of coronary heart disease: guidance for Framingham: a statement for healthcare professionals from the AHA task force on risk reduction. *Circulation.* 1998;97:1876-87.

Han TS, Van Leer EM, Seidell JC, Lean ME. Waist Circunference action levels in the identification of cardiovascular risk factors: prevalence study in a random sample. *Br Med J.* 1995;311:1401-05.

Harris WS, Bulchandani D. Why do omega-3 fatty acids lower serum triglycerides? *Curr Opin Lipidol.* 2006 Aug;17(4):387-93.

Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoprotein in human serum. *J Clin Invest.* 1955;32:1345-53.

Hennig B, Toborek M, McClain CJ. Hight-energy diets, fatty acids and endothelial cell function: implications for atherosclerosis. *Journal of the American College of Nutrition.* 2001;20(2):97-105.

HHHQ – Dietsys Analysis Software, version 4.02 [software na internet]. National Cancer Institute; 1999. Disponível em: <http://www.appliedresearch.cancer.gov/DietSys/software.html>.

Hodis HN, Kramsch DM, Avogaro P, Bittolo-Bon G, Cazzolato G, Hwang J, Peterson H, Sevanian A. Biochemical and cytotoxic characteristic of an in vivo circulating oxidized low density lipoprotein (LDL). *J. Lipid Res.* 1994;35:669-77.

Holub DJ, Holub BJ. Omega-3 fatty acids from fish oils and cardiovascular disease. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 2004;263:217–225.

Horkko S, Binder CJ, Shaw PX, Chang MK, Silverman G, Palinski W et al. Immunological responses to oxidized LDL. *Free Radic Biol Med.* 2000 Jun 15;28(12):1771-9.

Hulthe J, Fagerberg B. Circulating oxidized LDL is associated with subclinical atherosclerosis development and inflammatory cytokines (AIR Study). *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:1162-1167.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo demográfico : Ministério do planejamento, orçamento e gestão. 2002.

IDF Clinical Guidelines Task Force. Global Guideline for Type 2 Diabetes: recommendations for standard, comprehensive, and minimal care. *Diabet Med.* 2006;23(6):579-93.

Ignarro LJ, Balestrieri ML, Napoli C. Nutrition, physical activity, and cardiovascular disease: an update. *Cardiovasc Res.* 2007;73(2):326-40.

Inoue T, Uchida T, Kamishirado H, Takayanagi K, Hayashi T, Morooka S. Clinical significance of antibody against oxidized low density lipoprotein in patients with atherosclerotic coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37:775-9.

Islam S, Gutim B, Treiber F, Hobbs G, Kamboh I, Lopes-Virella M. Association of apolipoprotein A phenotypes and oxidized low-density lipoprotein immune complexes in children. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 1999;153:57-62.

Jeppesen J, Hein HO, Suadicani P, Gyntelberg F. Triglyceride concentration and ischemic heart disease - An Eight-Year Follow-up in the Copenhagen Male Study. *Circulation*. 1998;97:1029-1036.

Kannel WB. The Framingham Study: Its 50-year legacy and future promise. *J Atheroscler Thromb* 2000;6(2):60-6.

Kawamoto R, Oka Y, Tomita H, Kodama A. Non-HDL cholesterol as a predictor of carotid atherosclerosis in the elderly. *J Atheroscler Thromb*. 2005;12(3):143-8.

Klipstein-Grobusch K, Geleijnse JM, den Breeijen JH, Boeing H, Hofman A, Grobbee DE et al. Dietary antioxidants and risk of myocardial infarction in the elderly: the Rotterdam Study. *Am J Clin Nutr*. 1999;69:261-6.

Kratz M. Dietary cholesterol, atherosclerosis and coronary heart disease. *Handb Exp Pharmacol*. 2005;170:195-213.

Kreisberg RA, Oberman A. Lipids and atherosclerosis: lessons learned from randomized controlled trials of lipid lowering and other relevant studies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:423-37.

Kris-Etherton, P. AHA Science Advisory. Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. American Heart Association. Nutrition Committee.. *Circulation*. 1999;100:1253-8.

Lee DH, Folsom AR, Harnack L, Halliwell B, Jacobs DR. Does supplemental vitamin C increase cardiovascular disease risk in women with diabetes? *Am J Clin Nutr*. 2004;80:1194-200.

Libby P. Inflammation and cardiovascular disease mechanism. *Am J Clin Nutr* 2006;83(suppl):456S-60S.

Linna MS, Borg P, Kukkonem-Harjula K, Fogelholm M, Nenonen A, Ahotupa M, Vasankari TJ. Successful weight maintenance preserves lower levels of oxidized LDL achieved by weight reduction in obese men. *International Journal of Obesity*. 2007;31:245-253.

Lopez-Garcia E, Schulze M, Fung TT, Meigs JB, Rifai N, Manson JE, Hu FB. Major dietary patterns are related to plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction. *Am J Clin Nutr*. 2004;80:1029-35.

Lottenberg AMP, Nunes VS, Nakandakare ER, Neves M, Bernik M, Santos JE, Quintão ECR. Eficiência dos Ésteres de Fitosteróis Alimentares na redução dos Lipídeos plasmáticos em Hipercolesterolêmicos moderados. *Arq Bras Cardiol*. 2002;79(2):139-42.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193:265-75.

Lucas AD, Greaves DR. Atherosclerosis: role of chemokines and macrophages. *Expert Rev Mol Med*. 2001;1-18.

Mcgill Jr HC, McMahan CA, Herderick EE, Malcom GT, Tracy RE, Strong JP. Original of Atherosclerosis in childhood and adolescence. *Am J Clin Nutr*. 2000;72(suppl):1307S-15S.

Mackerras, D. Energy adjustment the concepts underlying the debate. *J Clin Epidemiol*. 1996;49(9):957-62.

Mayne ST. Antioxidant nutrients and chronic disease: Use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J Nutr*. 2003;133:933S-40.

Ministério da Saúde. Informações hospitalares do DataSus. [acesso em 03/09/2005]. Disponível em: <http://www.datasus.gov.br/>.

Monaco C, Crea F, Niccoli G, Summaria F, Cianflone D, Bordone R et al. Autoantibodies against oxidized low density lipoproteins in patients with stable angina, unstable angina or peripheral vascular disease; pathophysiological implications. *Eur Heart J.* 2001;22:1572-7.

Moro E, Zambon C, Pianetti S, Cazzolato G, Pais M, Bittolo-Bom G. Electronegative low density lipoprotein subform (LDL-) is increased in type 2 (non-insulin-dependent) microalbuminuric diabetic patients and is closely associated with LDL susceptibility to oxidation. *Acta Diabetol.* 1998;35:161-4.

Niki E, Noguchi N, Tsuchihashi H, Gotoh N. Interaction among vitamin C, vitamin E, and beta-carotene. *Am J Clin Nutr.* 1995;62 Suppl 6:1322-6.

NRC – National Research Council. *Dietary Reference Intakes: applications in dietary assessment.* Washington DC, National Academy Press, 2001.

O'Brien KD, Chait A. The biology of the artery wall in atherogenesis. *Medical Clinics of North America.* 1994;78(1):41-67.

Ohashi R, Mu H, Yao Q, Chen C. Atherosclerosis: immunopathogenesis and immunotherapy. *Med Sci Monit.* 2004;10(11):RA255-260.

Oliveira JA, Sevanian A, Rodrigues RJ, Apolinário E, Abdalla DSP. Minimally modified electronegative LDL and its autoantibodies in acute and chronic coronary syndromes. *Clinical Biochemistry.* 2006;39:708-14.

Organização Mundial da Saúde (OMS). *Manual de segurança biológica em laboratório.* 3ª. Edição. 2004.

Paccaud F, Schluter-Fasmeyer V, Wietlisbach V, Boyet P. Dyslipidemia and abdominal obesity: an assessment in three general populations. *J Clin Epidemiol.* 2000;53(4):393-400.



Palace VP, Khaper N, Qin Q, Singal PK. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radic Biol Med.* 1999 Mar;26(5-6):746-61.

Palinski W, Horkko S, Miller E, Steinbrecher UP, Powell HC, Curtiss LK et al. Cloning of monoclonal autoantibodies to epitopes of oxidized lipoproteins from apolipoprotein E-deficient mice. Demonstration of epitopes of oxidized low density lipoprotein in human plasma. *J Clin Invest.* 1996;98:800-14.

Palinski W, Tangirala RK, Miller E, Young SG, Witztum JL. Increased autoantibody titers against epitopes of oxidized LDL in LDL receptor-deficient mice with increased atherosclerosis. *Atheroscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15:1569-76.

Pereira EC, Bertolami MC, Faludi AA, Sevanian A, Abdalla DSP. Antioxidant effect of Simvastatin is not enhanced by its association with  $\alpha$ -tocopherol in Hypercholesterolemic patients. *Free Radical Biology & Medicine.* 2004;37(9):1440-8.

Pereira RA, Koifman S. Using food frequency questionnaire in past dietary intake assessment. *Rev Saúde Pública.* 1999 Dec;33(6):610-21.

Pinheiro ABV, Lacerda EMA, Benzecry EH, Gomes MCS, Costa VM. Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras. 4ª ed. Rio de Janeiro, São Paulo, Belo Horizonte: Atheneu; 2001.

Pisavos C, Panagiotakos DB, Tzima N, Chrysohoou C, Economou M, Zampelas A, et al. Adherence to the Mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in health adults: the ATTICA study. *Am J Clin Nutr.* 2005;82:694-9.

Philippi ST. Tabela de composição de alimentos: suporte para decisão nutricional. São Paulo: Coronário; 2002.

Rajaram S, Burke K, Connell B, Myint T, Sabate J. A monounsaturated fatty acid-rich pecan-enriched diet favorably alters the serum lipid profile of healthy men and women. *J Nutr.* 2001;131: 2275-9.

Reaven PD, Witztum JL. Oxidized low density lipoproteins in atherogenesis: role of dietary modification. *Annu Rev Nutr.* 1996;16:51-71.

Ridker PM, Rifai N, Cook NR, Bradwin G, Buring JE. Non-HDL cholesterol, apolipoproteins A-I and B100, standard lipid measures, lipid ratios, and CRP as risk factors for cardiovascular disease in women. *JAMA.* 2005 Jul 20;294(3):326-33.

Roland IA, Maranhão RC. Transfer of phospholipids and cholesterol from triglyceride-rich emulsions to HDL in rats treated with alloxan propylthiouracil or ethanol. *Braz. J Med Biol Res.* 1993;26:109-118.

Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340:115-26.

Rossi GP, Cesari M, Toni RD, Zanchetta M, Maiolino G, Pedon L et al. Antibodies to oxidized low-density lipoproteins and angiographically assessed coronary artery disease in white patients. 2003;108:2467-72.

Rye KA, Clay MA, Barter PJ. Remodelling of high density lipoproteins by plasma factors. *Atherosclerosis.* 1999;145:227-238.

Salvo VLMA, Gimeno SGA. Reprodutibilidade e validade do QFCA. *Rev Saúde Pública.* 2002;36:505-12.

Sánchez-Quesada JL, Benítez S, Ordóñez-Llanos J. Eletronegative low-density lipoprotein. *Curr Opin Lipidol.* 2004;15:329-35.

Sánchez-Quesada JL, Benítez S, Otal C, Franco M, Blanco-Vaca F, Ordóñez-Llanos J. Density distribution of electronegative LDL in normolipemic and hyperlipemic subjects. *J Lipid Res.* 2002;43:699-705.

Sánchez-Quesada JL, Camacho M, Antón R, Benítez S, Vila L, Ordóñez-Llanos J. Electronegative LDL of FH subjects: chemical characterization and induction of chemokine release from human endothelial cells. *Atherosclerosis.* 2003;166:261-270.

Sánchez-Quesada JL, Ortega H, Payés-Romero A, Serrat-Serrat J, González-Sastre F, Lasunción MA, Ordóñez-Llanos J. LDL from aerobically-trained subjects shows higher resistance to oxidative modification than LDL from sedentary subjects. *Atherosclerosis.* 1997;132:207-213.

Sánchez-Quesada JL, Pérez A, Caixas A, Ordonmez-Llanos J, Carreras G, Payes A, et al. Electronegative low density lipoprotein subform is increased in patients with short-duration IDDM and is closely related to glycaemic control. *Diabetologia.* 1996;39:1469-76.

Sanderson KJ, van Rij AM, Wade CR, Sutherland WHF. Lipid peroxidation of circulating low density lipoproteins with age, smoking and in peripheral vascular disease. *Atherosclerosis.* 1995;118:45-51.

Schaefer, EJ. Lipoproteins, nutrition and heart disease. *Am J Clin Nutr.* 2002;75(2):191-212.

Sevanian A, Asatryan L, Ziouzenkova O. Low Density Lipoprotein (LDL) Modification: Basic Concepts and Relationship to Atherosclerosis. *Blood Purif* 1999; 17:66-78.

Sevanian A, Bittolo-Bon G, Cazzolato G, Hodis H, Hwang J, Zamburlini A, Maiorino M, Ursini F. LDL<sup>+</sup> is a lipid hydroperoxide-enriched circulating lipoprotein. *J Lipid Res.* 1997;38:419-28.

Sevanian A, Hwang J, Hodis H, Cazzolato G, Avogaro P, Bittolo-Bon G. Contribution of an in vivo oxidized LDL to LDL oxidation and its association with dense LDL subpopulations. *Arterioscl Thromb Vasc Biol.* 1996;16:784-93.

Shoji T, Nishizawa Y, Fukumoto M, Shimamura K, Kimura J, Kanda H et al. Inverse relationship between circulating oxidized low density lipoprotein (oxLDL) and anti-oxLDL antibody levels in healthy subjects. *Atherosclerosis.* 2000;148:171-7.

Siqueira AFA, Abdalla DSP, Ferreira SRG. LDL: da Síndrome Metabólica à Instabilização da Placa Aterosclerótica. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2006;50(2):334-43.

Siqueira AFA, Franco LJ, Gimeno GA, Matsumura LK, Barros NJ, Ferreira SRG. Macrovascular disease in a Japanese-Brazilian population of high prevalence of metabolic syndrome: Associations with classical and non-classical risk factors. *Atherosclerosis. In press* 2006.

Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia.* 2001;77 Supl III:1-48.

Sociedade Brasileira de Cardiologia. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia.* 2007;88 Supl I: 2-19.

Sociedade Brasileira de Cardiologia. [acesso em 03/09/2005]. Disponível em: <http://www.cardiol.br/>.

Sociedade Brasileira de Diabetes. Consenso Brasileiro sobre Diabetes 2002: diagnóstico e classificação do diabetes melito e tratamento do diabetes melito tipo 2. Rio de Janeiro; 2003.

Sociedade Brasileira de Hipertensão. IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. Arquivo Brasileiro de Cardiologia. 2004;82Supl IV:7-14.

Sowers JR. Obesity as a cardiovascular risk factor. Am J Med. 2003;115(suppl):37S-41S.

Spady DK, Kearney DM, Hobbs HH. Polyunsaturated fatty acids up-regulate hepatic scavenger receptor B1 (SR-BI) expression and HDL cholesteryl ester uptake in the hamster. J Lipid Res. 1999 Aug;40(8):1384-94.

SPSS INCORPORATION. Statistical Package for the Social Sciences for Windows Student Version/ SPSS [computer program]. Release 13.0. Chicago: Marketing Department; 2000.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TBCA USP. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tabela/>.

TACO. Tabela brasileira de composição de alimentos – Versão 1 / NEPA – UNICAMP. Ministério da Saúde. Campinas; 2004.

Tangney CC, Mosca LI, Otvos JD, Rosenson RS. Oral 17 $\beta$ -estradiol and medroxyprogesterone acetate therapy in postmenopausal women increases HDL particles size. Atherosclerosis. 2001;155(2):425-30.

Tertov VV, Kaplun VV Sobenin IA, Orekhov AN. Low-density lipoprotein modification occurring in human plasma possible mechanism of in vivo lipoprotein desialylation as a primary step of atherogenic modification. Atherosclerosis. 1998;138:183-95.

Tinahones FJ, Gómez-Zumaquero JM, Garrido-Sánchez L, García-Fuentes E, Rojo-Martínez G, Esteva I. Influence of age and sex on levels of anti-oxidized LDL antibodies and anti-LDL immune complexes in the general population. Journal of Lipid Research. 2005;46:452-7.

Tomasik A, Jachec W, Skrzep-Poloczec B. Circulating electronegatively charged low-density lipoprotein in patients with angiographically documented coronary artery disease. *Scand J Clin Lab Invest.* 2003;63(4):259-66.

Tomita LY, Cardoso MA. Relação de medidas caseiras, composição química e receitas de alimentos nipo-brasileiros. São José do Rio Preto: FAMERP; 2000.

Toshima S, Hasegawa A, Kurabayashi M, Itabe H, Takano T, Sugano J, et al. Circulation oxidized low density lipoprotein levels. A biochemical risk marker for coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20(10):2243-7.

Ursini F, Sevanian A. Postprandial Oxidative Stress. *Biol Chem.* 2002;383:599-605.

USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 11.0. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service; 2001. Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>.

Vacaresse N, Lajoie-Mazenc I, Auge N, Suc I, Frisach MF, Salvayre R, Negre-Salvayre A. Activation of epithelial growth factor receptor pathway by unsaturated fatty acids. *Circ Res.* 1999;85(10):892-9.

Van Der Vleuten GM, Van Tits LJH, Den Heijer M, Lemmers H, Stalenhoef AFH, Graaf J. Decreased Adiponectin Levels in Familial Combined Hyperlipidemia Patients Contribute to the Atherogenic Lipid Profile. *J Lipid Res.* 2005;46(11):2398-404.

Van Himbergen TM, Roest M, Graaf J, Jansen EHJM, Hattori H, Kastelein JJP, Voorbij HAM, Stalenhoef AFH, Van Tits LJH. Indications that paraoxonase-1 contributes to plasma high density lipoprotein levels in familial hypercholesterolemia. *J Lipid Res.* 2005;46:445-451.

Vasankari T, Fogelholm M, Kukkonen-Harjula K, Nenonen A, Kujala U, Oja P et al. Reduced oxidized low-density lipoprotein after weight reduction in obese premenopausal women. *International Journal of Obesity*. 2001;25:205-11.

Vélasquez-Meléndez G, Kac G, Valente JG, Távares R, Silva CQ, Garcia ES. Evaluation of waist circumference to predict general obesity and arterial hypertension in women in Greater Metropolitan Belo Horizonte, Brazil. *Cad. Saúde Pública*. 2002;18(3):765-71.

Xavier HT, Abdalla DSP, Martinez TL, Ramires JA, Gagliardi AR. Effects of oxidized LDL on in vitro proliferation and spontaneous motility of human coronary artery endothelial cells. *Arq Bras Cardiol*. 2004;83(6): 493-7.

Xu J, Eilat-Adar S, Loria C, Goldbourt U, Howard BV, Fabsitz RR et al. Dietary fat intake and risk of coronary heart disease: the Strong Heart Study. *Am J Clin Nutr*. 2006;84:894 – 902.

Xu Y, Fu M. Alterations of HDL subclasses in hyperlipidemia. *Clinica Chimica Acta*. 2003;332:95-102.

Yano M, Inoue M, Maehata E, Shiba T, Yamakado M, Hirabayashi Y, Taniyama M, Suzuki S. Increased electronegative charge of serum low-density lipoprotein in patients with diabetes mellitus. *Clinical Chimica Acta*. 2004;340:93-8.

Yanq Y, Yan B, Fu M, Xu Y, Tian Y. Relationship between plasma lipid concentrations and HDL subclasses. *Clinica Chimica Acta*. 2005;354(1-2):49-58.

Yologlu S, Sezgin AT, Sezgin N, Ozdemir R, Yesilada E, Topal E. Determination of risk factors in obese and non-obese patients with coronary artery disease. *Acta Cardiol*. 2005;60:625-9.

Wang TD, Chen WJ, Chien KL, She-Yi Su SS, Hsu HC et al. Efficacy of cholesterol levels and ratios in predicting future coronary heart disease in a Chinese population. *Am J Cardiol.* 2001;88(7):737-43.

Wannamethee SG, Lowe GDO, Rumley A, Bruckdorfer KD, Whincup PH. Associations of vitamin C status, fruit and vegetable intakes, and markers of inflammation and hemostasis. *Am J Clin Nutr.* 2006;83:567-74.

Weinbrenner T, Schroder H, Escuriol V, Fito M, Elosua R, Vila J, Marrugat J, Covas M-I. Circulating oxidized LDL is associated with increased waist circumference independent of body mass index in men and women. *Am J Clin Nutr.* 2006;83:30-5.

Willet W, Stampfer M. Implications of total energy intake for epidemiologic analyses. In: Willet W. *Nutritional Epidemiology.* New York: Oxford University Press. 1998.

Witztum JL. Thematic Reviews on the Pathogenesis of Atherosclerosis. *J. lipid Res.* 2004;45:991-992.

Wood RJ, Volek JS, Liu Y, Schachter NS, Contois J, Fernandez ML. Carbohydrate restriction alters lipoprotein metabolism by modifying VLDL, LDL and HDL subfraction distribution and size in overweight men. *J Nutr.* 2006;136:384-9.

World Health Organization (WHO). Obesity. Preventing and managing the global epidemic. Report. Geneva; 2000. (WHO – Technical Report Series, 894).

World Health Organization (WHO). World Health Statistics. Report. Geneva; 2006.

Zabotto CB, Vianna RPT, Gil MF. Registro Fotográfico para Inquéritos Dietéticos – Utensílios e Porções. Goiânia: Nepa-UNICAMP; 1996.



Zern TL, Fernandez ML. Cardioprotective effects of dietary polyphenols. *J. Nutr.* 2005;135:2291-4.

Ziouzenkova O, Asatryan L, Akmal M, Tetta C, Wratten ML, Loseto-Wich G, Jurgens G, Heinecke J, Sevanian A. Oxidative cross-linking of ApoB100 and hemoglobin results in low density lipoprotein modification in blood. *J Biol Chem.* 1999;27:18916-24.

*Anexos*

---

## Anexo 1

### *Termo de Consentimento Livre e Esclarecido*

O estudo: **Lipoproteína de baixa densidade eletronegativa (LDL<sup>-</sup>) em indivíduos com diferentes níveis de risco cardiovascular: Parâmetros Nutricionais e Bioquímicos** tem como objetivo avaliar a possível influência do estado nutricional (alimentar e físico) sobre a geração de LDL<sup>-</sup>, uma forma de gordura carregada no sangue e que pode estar alterada em seres humanos. Deste modo, pretende-se identificar possíveis hábitos alimentares que possam manter relação com a geração da LDL<sup>-</sup> em indivíduos com colesterol elevado com ou sem aterosclerose (doença caracterizada pelo acúmulo de gordura nas artérias). Para a realização do mesmo, será coletada uma amostra de sangue (20,0 ml) e o Sr(a) responderá também um questionário sobre seus hábitos de vida, nível sócio-econômico, hábitos culturais, físicos e alimentares. Todos os resultados obtidos estarão a sua disposição, sendo que sua identidade será mantida em total sigilo. O Sr(a) tem o direito de se retirar deste projeto a qualquer momento. Sua participação ou não neste estudo não comprometerá de qualquer forma seu atendimento neste Hospital. Se houver algum problema de saúde, decorrente da pesquisa, o Sr(a) será atendido nesta Instituição, segundo o critério de assistência da mesma.

Este projeto será desenvolvido pelo Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade São Paulo em associação com este hospital. A pesquisa tem caráter de diagnóstico e não de intervenção. Portanto, o risco é considerado mínimo. Contudo devido ao jejum para coleta de sangue ocasionalmente podem ocorrer tonturas ou enjôos. Os materiais de coleta de sangue são totalmente descartáveis, porém a coleta de sangue pode raramente gerar um pequeno hematoma (manchas roxas) no local de punção. Os benefícios do resultado deste estudo são a identificação de hábitos alimentares que podem aumentar os riscos de doença cardíaca em indivíduos com colesterol elevado com ou sem aterosclerose. Neste contexto, os benefícios para a população inclusa no estudo ainda são experimentais, mas visualizam a identificação de comportamentos alimentares mais saudáveis para a população em geral. Todos os resultados serão entregues aos participantes do estudo, sendo que orientações específicas (sugestão para procurar um profissional médico e/ou nutricionista) serão dadas quando estes resultados indicarem risco à saúde destes indivíduos.

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20 \_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Paciente:  
RG:  
Data de Nascimento:  
Endereço:

Sexo:  
CPF:  
  
Telefone:

\_\_\_\_\_  
Nutricionista Ana Paula de Queiroz Mello (Mestranda)  
Faculdade de Saúde Pública / Departamento de Nutrição  
Telefone para contato: (11) 3061-7701 ramal: 220

\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno – Coordenadora-Chefe  
Faculdade de Saúde Pública / Departamento de Nutrição  
Av. Dr. Arnaldo, 715 - Cerqueira César - CEP: 01246-904 – São Paulo – SP

Telefone para contato: (11) 3061-7701 ramal: 220 / Fax: (11) 3061-7701

## Anexo 2

### Formulário de Identificação e Avaliação Sócio-Econômica, Cultural e de Saúde do Paciente

( ) InCor ( ) UBAS ( ) HU			REG:
A0 Data: / /			A1 Retorno: / /
A2 Nome:			A3 Data de Nasc.: / /
Endereço:			
Bairro:		CEP:	
Cidade:		Telefone:	
A4 Sexo: 1( ) M 2( ) F	A5 Idade:	A6 ERF:	
A7 Raça: 1( ) Branco 2( ) Negro 3( ) Pardo 4( ) Amarelo 5( ) Indígena			
A8 Estado Civil: 1( ) Solteiro 2( ) Casado 3( ) Viúvo 4( ) Divorciado 5( ) Outros			
A9 Trabalha atualmente: 1( ) SIM 2( ) NÃO 3( ) Aposentado 4( ) Outros: _____			
A10 Profissão: _____			
A11 Escolaridade: 1( ) Analfabeto		5( ) Ensino Médio Completo	
2( ) Ensino Fundamental Incompleto		6( ) Ensino Superior Incompleto	
3( ) Ensino Fundamental Completo		7( ) Ensino Superior Completo	
4( ) Ensino Médio Incompleto		9( ) Outros: _____	
A12 Quantas pessoas moram na sua casa? _____		A13 Quantas crianças? _____	
A14 Renda média mensal: 1( ) Menos que 1 SM 3( ) Entre 6 e 10 SM			
2( ) Entre 1 e 5 SM 4( ) Mais que 10 SM			
A15 Fumante: 1( ) SIM 2( ) NÃO			
A16 Consome bebida alcoólica: 1( ) SIM 2( ) NÃO			
A17 Tipos de bebidas alcoólicas mais consumidas: 1( ) Cerveja 3( ) Cachaça 5( ) Vinho tinto			
2( ) Vinho branco 4( ) Outras: _____			
A18 Frequência de Consumo: 1( ) Diário 2( ) Semanal: _____ 3( ) Mensal: _____ 4( ) Menos de 1x/mês			
A19 Quantidade de bebida alcoólica ingerida no intervalo acima? _____			
A20 Consumo de outros tipos de drogas: 1( ) SIM 2( ) NÃO			
A21 Qual (s): _____			
A22 Possui alguma doença? 1( ) SIM 2( ) NÃO			
A23 Qual doença:			
1( ) Diabetes Mellitus		6( ) Insuficiência Renal Crônica	
2( ) Hipertensão Arterial		7( ) Atresia Biliar	
3( ) Hipotireoidismo		8( ) Doença Auto-Imune	
4( ) Doença Hepática		9( ) Doença Coronariana	

5( ) Outras Qual (s)? \_\_\_\_\_

A24 Diagnóstico Clínico de DAC ou equivalente: 1( ) SIM 2( ) NÃO

A25 Qual diagnóstico:

1( ) História de Infarto do Miocárdio 7( ) Revascularização do Miocárdio  
2( ) Angina 8( ) Angioplastia  
3( ) Alterações eletrocardiográficas isquêmicas 9( ) Aterosclerose  
4( ) Doença Arterial Periférica 10( ) Aneurisma de Aorta Abdominal  
5( ) Doença Arterial Carotídea (ataque isquêmico transitório ou Acidente Vascular Cerebral de origem carotídea ou obstrução da carótida >50%)  
6( ) Diabetes Mellitus 11( ) Outros: \_\_\_\_\_

A26 Fator de Risco para DAC: 1( ) SIM 2( ) NÃO

A27 Qual fator de risco:

1( ) HAS (140/90 mmHg ou uso de anti-hipertensivo)  
2( ) HDL baixo (< 40mg/ml)  
3( ) Idade (45 anos, homens; 55 anos, mulheres)  
4( ) História Familiar de DAC em parente de 1º. Grau (<55 anos, homens ou <65 anos, mulheres)

A28 Já fez algum tipo de cirurgia? 1( ) SIM 2( ) NÃO

A29 Qual? \_\_\_\_\_

A30 Quando? \_\_\_\_\_

A31 Usa algum Medicamento e/ou Vitaminas? 1( ) SIM 2( ) NÃO

A32 Qual:

1( ) grupo das Estatinas 4( ) Ferro/Zinco  
2( ) Anti-hipertensivo 5( ) Vitamina  
3( ) Outros

A33 Qual(s)? \_\_\_\_\_

A34 Frequência: \_\_\_\_\_

A35 Indicação: \_\_\_\_\_

A36 Usa Hormônio/Anticoncepcional? 1( ) SIM 2( ) NÃO

A37 Qual? \_\_\_\_\_

A38 Suplementos com Isoflavonas ? 1( ) SIM 2( ) NÃO

A39 Qual? \_\_\_\_\_

A40 Já recebeu algum tipo de orientação Nutricional? 1( ) SIM 2( ) NÃO

A41 Qual frequência? 1( ) Esporádica 2( ) Mensal 3( ) Trimestral 4( ) Semestral 5( ) Outras

Parâmetros Bioquímicos, coletados do Prontuário:

	Valor	Data do Exame
<b>CT</b>	A42	A43
<b>HDL</b>	A44	A45

<b>VLDL</b>	<u>A46</u>	<u>A47</u>
<b>LDL</b>	<u>A48</u>	<u>A49</u>
<b>TG</b>	<u>A50</u>	<u>A51</u>
<b>Glicemia</b>	<u>A52</u>	<u>A53</u>
<b>TSH</b>	<u>A54</u>	<u>A55</u>
<b>T4 livre</b>	<u>A56</u>	<u>A57</u>

Parâmetros Clínicos e Antropométricos, coletados pelo pesquisador:

	<b>Valor</b>
<b>Altura</b>	<u>A58</u>
<b>Peso</b>	<u>A59</u>
<b>% de Gordura (balança)</b>	<u>A60</u>
<b>IMC</b>	<u>A61</u>
<b>Circunf. Cintura</b>	<u>A62</u>
<b>Circunf. Quadril</b>	<u>A63</u>
<b>Relação C/Q</b>	<u>A64</u>
<b>Resistência</b>	<u>A65</u>
<b>Reactância</b>	<u>A66</u>
<b>% de Gordura (BIA)</b>	<u>A67</u>
<b>PA</b>	<u>A68</u>
<b>PAS MMII</b>	<u>A69</u>
<b>PAS MMSS</b>	<u>A70</u>
<b>ITB</b>	<u>A71</u>

Legenda:

ERF...Escore de Risco de Framingham

SM...Salário Mínimo

DAC...Doença Arterial Coronariana

CT...Colesterol Total

HDL...Lipoproteína de Alta Densidade

VLDL...Lipoproteína de muito Baixa Densidade

LDL...Lipoproteína de Baixa Densidade

TG...Triacilgliceróis

TSH...Hormônio Estimulante da Tireóide

T4...Tetraiodotironina

IMC...Índice de Massa Corpórea

Relação C/Q...Relação Cintura/Quadril

PAS MMII...Pressão Arterial Sistólica de Membros Inferiores

PAS MMSS...Pressão Arterial Sistólica de Membros Superiores

ITB...Índice de Tornozelo-Braço

### *Anexo 3*

#### ***Critérios para identificação de pacientes com alto risco de eventos coronarianos***

- Doença Arterial Coronária manifesta atual ou prévia (angina estável, isquemia silenciosa, síndrome coronária aguda ou cardiomiopatia isquêmica);
- Doença Arterial Cerebrovascular (acidente vascular cerebral isquêmico ou ataque isquêmico transitório);
- Doença Aneurismática ou estenótica de aorta abdominal ou seus ramos;
- Doença Arterial Periférica;
- Doença Arterial Carotídea (Estenose maior ou igual a 50%);
- Diabetes Melito tipo 1 ou 2.

#### Anexo 4

### Escore de Risco de *Framingham* – ERF

Cálculo de estimativa de risco de desenvolvimento de DAC em 10 anos para

**Homens:**

IDADE	PONTOS
20-34	-9
35-39	-4
40-44	0
45-49	3
50-54	6
55-59	8
60-64	10
65-69	11
70-74	12
75-79	13

COLESTEROL TOTAL (mg/dL)	PONTOS				
	20-39 anos	40-49 anos	50-59 anos	60-69 anos	70-79 anos
<160	0	0	0	0	0
160-199	4	3	2	1	0
200-239	7	5	3	1	0
240-279	9	6	4	2	1
≥280	11	8	5	3	1

ESTADO DE TABAGISMO	PONTOS				
	20-39 anos	40-49 anos	50-59 anos	60-69 anos	70-79 anos
Não-tabagista	0	0	0	0	0
Tabagista	8	5	3	1	1

PA SISTÓLICA (mmHg)	Se não Tratada	Se Tratada
<120	0	0
120-129	0	1
130-139	1	2
140-159	1	2
≥160	2	3



<b>HDL (mg/dL)</b>	<b>PONTOS</b>
≥60	-1
50-59	0
40-49	1
<40	2

<b>PONTUAÇÃO TOTAL</b>	<b>% DE RISCO EM 10 ANOS</b>
<0	<1
0	1
1	1
2	1
3	1
4	1
5	2
6	2
7	3
8	4
9	5
10	6
11	8
12	10
13	12
14	16
15	20
16	25
≥17	≥30

## Escore de Risco de *Framingham* – ERF

Cálculo de estimativa de risco de desenvolvimento de DAC em 10 anos para

**Mulheres:**

IDADE	PONTOS
20-34	-7
35-39	-3
40-44	0
45-49	3
50-54	6
55-59	8
60-64	10
65-69	12
70-74	14
75-79	16

COLESTEROL TOTAL (mg/dL)	PONTOS				
	20-39 anos	40-49 anos	50-59 anos	60-69 anos	70-79 anos
<160	0	0	0	0	0
160-199	4	3	2	1	1
200-239	8	6	4	2	1
240-279	11	8	5	3	2
≥280	13	10	7	4	2

ESTADO DE TABAGISMO	PONTOS				
	20-39 anos	40-49 anos	50-59 anos	60-69 anos	70-79 anos
Não-tabagista	0	0	0	0	0
Tabagista	9	7	4	2	1

PA SISTÓLICA (mmHg)	Se não Tratada	Se Tratada
<120	0	0
120-129	1	3
130-139	2	4
140-159	3	5
≥160	4	6

<b>HDL (mg/dL)</b>	<b>PONTOS</b>
≥60	-1
50-59	0
40-49	1
<40	2

<b>PONTUAÇÃO TOTAL</b>	<b>% DE RISCO EM 10 ANOS</b>
<9	<1
9	1
10	1
11	1
12	1
13	2
14	2
15	3
16	4
17	5
18	6
19	8
20	11
21	14
22	17
23	22
24	27
≥25	≥30

## Anexo 5

### Classificação de Risco para DAC

<b>Categoria de Risco</b>	<b>Características Clínicas</b>
Aterosclerose significativa	Escore de risco de DAC em 10 anos >20% (ERF)
Alto risco ou Diabéticos	Escore de risco de DAC em 10 anos de >20% (ERF)
Risco Intermediário	Escore de risco de DAC em 10 anos de 10-20% (ERF)
Baixo Risco	Escore de risco de DAC em 10 anos < 10% (ERF)

## Anexo 6

### Questionário Quantitativo de Frequência Alimentar (QQFA)

SOPAS	FREQUÊNCIA	UNID	PORÇÃO MÉDIA (M)	PORÇÃO
Sopas (de legumes, canja, cremes, etc.)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 prato médio (250ml)	P M G E O O O O
MASSAS	FREQUÊNCIA	UNID	PORÇÃO MÉDIA (M)	PORÇÃO
Macarronadas, lasanha, outras massas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 escumadeira cheia ou ½ prato (100g)	P M G E O O O O
Pastelaria: torta, empada, esfiha, pastel, kibe, coxinha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 unidade ou 1 pedaço médio (80g)	P M G E O O O O
Pizza	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	2 pedaços médio (440g)	P M G E O O O O
PRATOS MISTOS	FREQUÊNCIA	UNID	PORÇÃO MÉDIA (M)	PORÇÃO
Estrogonofe	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	½ prato médio ou 4 colh sopa (120g)	P M G E O O O O
Hamburger, cachorro quente	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 unidade (120g)	P M G E O O O O
CARNES	FREQUÊNCIA	UNID	PORÇÃO MÉDIA (M)	PORÇÃO
Bife bovino, carne assada ou grelhada, churrasco	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	3 fatias / pedaços médios ou 1 bife médio (100g)	P M G E O O O O
Carne cozida ou moída	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	2 colheres de sopa ou 2 pedaços (70g)	P M G E O O O O
Bife à milanesa ou à parmegiana	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 unidade média (120g)	P M G E O O O O
Lingüiça, salsicha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	2 unidades médias (80g)	P M G E O O O O
Presunto, mortadela, outros frios	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	2 fatias médias (30g)	P M G E O O O O
Carne de porco	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	2-3 pedaços médios (100g)	P M G E O O O O
Frango à milanesa, à dorê, nuggets	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 filé médio ou 5 nuggets(100g)	P M G E O O O O
Frango grelhado, assado, espeto	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	2 pedaços ou 1 filé médio (90g)	P M G E O O O O
Miúdos de frango (coração, moela, fígado)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	3 pedaços (90g)	P M G E O O O O
Fígado bovino	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 filé médio (60g)	P M G E O O O O
PEIXES	FREQUÊNCIA	UNID	PORÇÃO MÉDIA (M)	PORÇÃO
Peixe frito (sardinha, pescado)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 unidade média ou 2 pedaços (80g)	P M G E O O O O
Peixe, cozido, assado ou grelhado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 filé ou 2 pedaços (80g)	P M G E O O O O

Atum, sardinha ou bonito em lata	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 colh sopa ou ½ lata (30g)	PMGE O O O O	
Camarão, lula, frutos do mar	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 unidades grandes (60g)	PMGE O O O O	
Bacalhau	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 col arroz (60 gramas)	PMGE O O O O	
<b>LEGUMINOSAS E OVOS</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>UNID</b>	<b>PORÇÃO MÉDIA (M)</b>	<b>PORÇÃO</b>	
Feijão roxo, carioca	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	½ concha média ou 3 colheres de sopa (60g)	PMGE O O O O	
Feijoada	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	½ concha média ou 3 colheres de sopa (60g)	PMGE O O O O	
Lentilha, soja, feijão branco, grão-de-bico	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	3 colheres de sopa (60g)	PMGE O O O O	
Extrato de Soja	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 colheres sopa (18 gramas)	PMGE O O O O	
Leite de soja	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 pacote (200mL)	PMGE O O O O	
Ovos (cozido, frito, cru)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 unidade média (60g)	PMGE O O O O	
Soja	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	½ tigela (70g)	PMGE O O O O	
<b>ARROZ E TUBÉRCULOS</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>UNID</b>	<b>PORÇÃO MÉDIA (M)</b>	<b>PORÇÃO</b>	
Batata doce ou abóbora	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	3 pedaços médios ou 1 unidade média (90g)	PMGE O O O O	
Salada de maionese com legumes	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	3 colheres de sopa (90g)	PMGE O O O O	
Batata, mandioca, inhame – assado/ cozido	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	3 colheres de sopa (90g)	PMGE O O O O	
Arroz branco cozido com óleo e temperos	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	3-4 colheres de sopa (90g)	PMGE O O O O	
Batata frita ou mandioca frita	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 colheres de sopa (50g)	PMGE O O O O	
<b>LEITE E DERIVADOS,</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>UNID</b>	<b>PORÇÃO MÉDIA (M)</b>	<b>PORÇÃO</b>	
Leite integral	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 copo (150mL)	PMGE O O O O	
Leite desnatado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 copo (150mL)	PMGE O O O O	
Requeijão, queijo cremoso	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 colher de sopa (25g)	PMGE O O O O	
Iogurte, coalhada	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 copo (200ml)	PMGE O O O O	
Milkshake ou vitamina de leite	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 copo (150ml)	PMGE O O O O	

Yakult, outros produtos lácteos	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 frasco / pote (60mL)	PMGE O O O O	
Queijo fresco ou ricota	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 fatias médias (40g)	PMGE O O O O	
Queijo prato, mussarela, provolone, parmezão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 fatias médias ou 1 colher de sopa (30g)	PMGE O O O O	
<b>VEGETAIS</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>UNID</b>	<b>PORÇÃO MÉDIA (M)</b>	<b>PORÇÃO</b>	
Vegetais fritos (tempura de cenoura, berinjela, etc)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	3 fatias ou duas rodela grossas (60g)	PMGE O O O O	
Alface, escarola, agrião, rúcula (cru)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	3 folhas média (30g)	PMGE O O O O	
Tomate (cru)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 unidade pequena ou 4 fatias (70g)	PMGE O O O O	
Acelga, repolho	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 colheres de sopa (40g)	PMGE O O O O	
Couve, espinafre (cozido)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	3 colheres de sopa (60g)	PMGE O O O O	
Brócolis, couve-flor	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	3 colheres de sopa (30g)	PMGE O O O O	
Berinjela, chuchu, abobrinha refogada	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 colheres de sopa (60g)	PMGE O O O O	
Cenoura crua ou cozida	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	3 colheres de sopa ou 1 prato de sobremesa (60g)	PMGE O O O O	
Beterraba (crua ou cozida)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	4 fatias ou 4 colheres de sopa (90g)	PMGE O O O O	
Pepino, pimentão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	½ unidade pequena (50g)	PMGE O O O O	
Milho verde, vagem	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	3 colheres de sopa (60g)	PMGE O O O O	
<b>MOLHOS</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>UNID</b>	<b>PORÇÃO MÉDIA (M)</b>	<b>PORÇÃO</b>	
Óleo, azeite em saladas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 colheres de chá ou 1 colher de sobremesa (5g)	PMGE O O O O	
Maionese, molho rosê (também em pães)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 colher de sopa (15g)	PMGE O O O O	
Mostarda (condimento)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 colher chá ou sachê (7 gramas)	PMGE O O O O	
Margarina <i>light</i> passada no pão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 pontas de faca (5g)	PMGE O O O O	
Manteiga passada no pão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 pontas de faca (5g)	PMGE O O O O	
Pasta de amendoim ou patês	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 pontas de faca (10g)	PMGE O O O O	
Margarina comum passada no pão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 pontas de faca (5g)	PMGE O O O O	

Azeitona	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	5 azeitonas (20 gramas)	PMGE O O O O	
Creme de Leite	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 colheres de sopa (30 gramas)	PMGE O O O O	
<b>FRUTAS E SUCOS</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>UNID</b>	<b>PORÇÃO MÉDIA (M)</b>	<b>PORÇÃO</b>	
Maçã ou pêra	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 unidade média (150g)	PMGE O O O O	
Banana	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 unidade média (60g)	PMGE O O O O	
Uva, morango, pêssego, ameixa	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 tigela (=1 cacho) ou 1 fatia (100g)	PMGE O O O O	
Mamão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 fatia média ou meio papaya (110g)	PMGE O O O O	
Caqui (na época)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 unidade média (165g)	PMGE O O O O	
Melancia	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 fatia média (150g)	PMGE O O O O	
Manga (na época)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 unidade média (90g)	PMGE O O O O	
Abacaxi, melão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 fatia média (100g)	PMGE O O O O	
Kiwi, goiaba	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 unidade média ou 1 goiaba pequena (60g)	PMGE O O O O	
Laranja, mexerica, tangerina	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 unidades médias (175g)	PMGE O O O O	
Suco de laranja natural	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 copo (150ml)	PMGE O O O O	
Abacate	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 xícara de chá (130g)	PMGE O O O O	
Salada de frutas, frutas em calda, outras frutas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 taça ou 1 tigela (180g)	PMGE O O O O	
Suco natural de outras frutas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 copo (150ml)	PMGE O O O O	
<b>CAFÉ E CHÁ</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>UNID</b>	<b>PORÇÃO MÉDIA (M)</b>	<b>PORÇÃO</b>	
Cappucino	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 xícara (150mL)	PMGE O O O O	
Chá preto ou mate	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 xícara de chá (150mL)	PMGE O O O O	
Chá verde, chá de ervas, outros chás	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 xícara de chá (150mL)	PMGE O O O O	
Café	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 xícara de café (50mL)	PMGE O O O O	
<b>PÃES E BISCOITOS</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>UNID</b>	<b>PORÇÃO MÉDIA (M)</b>	<b>PORÇÃO</b>	



Pão francês, de forma, italiano ou sírio	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 unidade ou 2 fatias (50g)	PMGE O O O O	
Pão integral, de trigo, centeio ou cevada	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 fatias (50g)	PMGE O O O O	
Pão doce, sovado, de queijo, broa de milho	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 unidade média (80g)	PMGE O O O O	
Torradas, biscoito salgado ou doce	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	3 a 4 unidades (20g)	PMGE O O O O	
Neston, aveia, granola outro cereal	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 colher de sopa (10g)	PMGE O O O O	
Gergelim, linhaça	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 colher chá (2,7 gramas)	PMGE O O O O	
Pipoca	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 tigela média ou 1 porção (20g)	PMGE O O O O	
<b>BEBIDAS ALCOÓLICAS</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>UNID</b>	<b>PORÇÃO MÉDIA (M)</b>	<b>PORÇÃO</b>	
Pinga, saque, whisky, vodca	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 doses (60ml)	PMGE O O O O	
Cerveja	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 lata (350ml) ou 2 copos americanos	PMGE O O O O	
Vinho	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 cálices de vinho ou 1 copo (120ml)	PMGE O O O O	
<b>DOCES, SOBREMESAS</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>UNID</b>	<b>PORÇÃO MÉDIA (M)</b>	<b>PORÇÃO</b>	
Bala, Chiclete	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	3 unidades (15 gramas)	PMGE O O O O	
Bolinho de chuva, sonho, rabanada	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	5 bolinhos pequenos ou 1 unidade média (50g)	PMGE O O O O	
Geléia ou mel em pães ou biscoitos	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 colher de sopa (12g)	PMGE O O O O	
Doce de abóbora ou goiabada	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 pedaço médio (50g)	PMGE O O O O	
Banana à milanesa	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 unidade (100 gramas)	PMGE O O O O	
Canjica	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 concha pequena (60 gramas)	PMGE O O O O	
Leite Condensado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 colheres sopa (38 gramas)	PMGE O O O O	
Açúcar adicionado ao leite	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 colheres de chá (8g)	PMGE O O O O	
Chocolate, Nescau, Tody adicionado ao leite	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 colheres de chá (8g)	PMGE O O O O	
Açúcar ou mel em café ou chás	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 colheres de chá (8g)	PMGE O O O O	
Adoçante artificial	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	3 a 4 gotas ou 1 envelope (0,8g)	PMGE O O O O	

Panetone, Chocotone	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 fatia média (45 gramas)	PMGE O O O O	
Chocolates, brigadeiro	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 unidades ou 1 barra (30g)	PMGE O O O O	
Bolos, tortas, bombas, pavês	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 pedaço médio (100g)	PMGE O O O O	
Sorvetes	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	2 picolés ou 1 taça (2 bolas) (120g)	PMGE O O O O	
Pudins, flans, curau, arroz doce	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 unidade ou 1 pote (90g)	PMGE O O O O	
Refrigerante não dietético	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 copo (200mL)	PMGE O O O O	
Refrigerante dietético	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 copo (200mL)	PMGE O O O O	
Sucos artificiais	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 copo (150mL)	PMGE O O O O	
<b>SALGADINHOS</b>	<b>FREQÜÊNCIA</b>	<b>UNID</b>	<b>PORÇÃO MÉDIA (M)</b>	<b>PORÇÃO</b>	
Salgadinhos, chips, torresmo	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 xícara de chá ou 1 pacote (100g)	PMGE O O O O	
<b>FRUTAS OLEAGINOSAS</b>	<b>FREQÜÊNCIA</b>	<b>UNID</b>	<b>PORÇÃO MÉDIA (M)</b>	<b>PORÇÃO</b>	
Amendoim, castanhas, nozes	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	1 xícara de chá (100g)	PMGE O O O O	

<b>Com que freqüência a Sr.(a) costuma:</b>		<b>Unidade</b>	
Usar gordura ou óleo para cozinhar?	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	
Comer verduras e legumes sem incluir saladas? (no. de porções)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	
Comer frutas sem incluir sucos de frutas? (no. de porções)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	
<b>Com que freqüência o Sr.(a) costuma:</b>			
Acrescentar mais sal na hora de comer (além do presente na refeição)?	1.Nunca/raramente 2.Algumas vezes 3.Sempre O O O		
Comer gordura visível de carnes	1.Nunca/raramente 2.Algumas vezes 3.Sempre O O O		
<b>Tomou Vitamina / Mineral no último ano?</b> 1( )Não 2( )Sim, regularmente 3( )Sim, não regularmente			
<b>Tomou regularmente Vitamina / Mineral, quantos comprimidos?</b>	<b>Unidade</b>	<b>Por quanto tempo?</b>	
Vitamina A: Não(00) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	<1ano 1-2 3-5 6-9 +10anos O1 O2 O3 O4 O5	
Vitamina E: Não(00) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O O	DSMA O O O O	<1ano 1-2 3-5 6-9 +10anos O1 O2 O3 O4 O5	

Vitamina C: Não(00) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	<1ano 1-2 3-5 6-9 +10anos O1 O2 O3 O4 O5
Cálcio: Não(00) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	<1ano 1-2 3-5 6-9 +10anos O1 O2 O3 O4 O5
<b>Se tomou Vitamina E ou C, qual a unidade ou mg/comprimido?</b>		
Vitamina E: 1( ) 100      2( ) 200      3( ) 400      4( ) 1000      9( ) Não sabe		
Vitamina C: 1( ) 100      2( ) 250      3( ) 500      4( ) 1000      9( ) Não sabe		
<b>O Sr.(a) toma regularmente algum dos seguintes Nutrientes?</b>		
0( ) Não/Não sabe    1( ) Zinco    2( ) Ferro    3( ) Selênio    4( ) Beta-caroteno    5( ) _____		
<b>Que tipo de óleo / gordura o Sr. (a) costuma usar no Cozimento / Preparo de refeições?</b>		
0( ) Não usa                                  1( ) Margarina                                  2( ) Manteiga                                  3( ) Azeite de oliva		
4( ) Óleo de soja / milho / outros      5( ) Bacon                                  6( ) Banha                                  99( ) Não sabe / Não cozinha		
<b>Que tipo de óleo o Sr (a) costuma usar em Saladas?</b>		
0( ) Não usa                                  1( ) Azeite de oliva                                  2( ) Óleo de soja / milho		
3( ) Óleo de girassol / canola                                  99( ) Não sabe / Não cozinha		
<b>Quando o Sr. (a) como queijo / requeijão, iogurte / sorvete e maionese / molhos para salada, com que frequência esses alimentos são do tipo light?</b>		
Queijo / requeijão:    1( ) Sempre      2( ) Algumas vezes      3( ) Raramente / não come      9( ) Não sabe		
Iogurte / sorvete:    1( ) Sempre      2( ) Algumas vezes      3( ) Raramente / não come      9( ) Não sabe		
Maionese / molhos:    1( ) Sempre      2( ) Algumas vezes      3( ) Raramente / não come      9( ) Não sabe		

## Anexo 7

### Relação dos alimentos excluídos do QQFA

Grupos	Alimentos excluídos	Porção média
<i>Sopas</i>	Misoshiru	1 tigela (200mL)
<i>Massas</i>	Yakisoba	1 prato médio ou 1 tigela (215g)
	<i>Udon, soba, ramen</i>	1 tigela ou 1 prato (200g)
<i>Pratos Mistos</i>	Sukiyaki, kareraisu	½ prato médio (120g)
	<i>Chop suey de frango, nishime</i>	½ prato médio (120g)
<i>Peixes</i>	Sashimi	5 a 6 fatias (90g)
	<i>Chikuwa, kamaboko</i>	4 pedaços (80g)
<i>Leguminosas</i>	Shiruko, zenzai	½ tigela (100g)
	Tofu fresco ou <i>yakidofu</i>	2 pedaços médios (50g)
	Miso	1 colher de chá (5g)
Arroz e Tubérculos	Arroz japonês sem óleo	1 tigela (200g)
	Oniguirí, norimaki, makisushi	3 unidades ou 1 <i>oniguirí</i> (120g)
	<i>Konnyaku</i>	2 colheres de sopa (45g)
Vegetais	Broto de feijão, bambu	½ tigela (70g)
	Nabo, bardana cru ou cozida	3 colheres de sopa (60g)
<i>Pães e biscoitos</i>	Sembei	3 a 4 unidades (20g)
	<i>Ima-gawa-yaki</i>	1 unidade média (50g)
<i>Doces, sobremesas</i>	Yookan	1 pedaço médio (50g)
	<i>Manju, daifuku, mochimanju</i>	2 unidades médias (40g)

## Relação dos novos alimentos incluídos no QQFA

<b>Grupos</b>	<b>Novos alimentos</b>	<b>Porção média</b>
Vegetais	Extrato de soja	2 colheres de sopa (18g)
	Azeitona	5 unidades médias (20g)
Molhos	Mostarda	1 colher de chá ou 1 sachê (7g)
Pães e biscoitos	Gergelim, linhaça	1 colher de chá (2,7g)
	Panetone, chocotone	1 fatia média (45g)
Leite e derivados	Creme de leite	2 colheres de sopa (30g)
	Leite condensado	2 colheres de sopa (38g)
Doces e sobremesas	Canjica	1 concha pequena (60g)
	Banana à milanesa	1 unidade média (100g)
Café e chá	Cappucino	1 xícara (150mL)

## Anexo 8

### Manual do Entrevistador

Para o sucesso da aplicação do método de inquérito alimentar escolhido, é preciso que o entrevistador atente-se a algumas questões, que serão descritas ao longo deste manual.

Apresentação inicial do entrevistador:

- É de extrema importância, antes da aplicação do inquérito alimentar, que o entrevistador se apresente, explicando os objetivos da entrevista e informando ao entrevistado a duração média da mesma.
- Esclarecer que todos os dados coletados são de ordem confidencial.
- Explicar ao entrevistado o direito à não participação, sem qualquer prejuízo.

Considerações importantes:

- Os entrevistadores deverão estar treinados e com amplo conhecimento dos hábitos e costumes da comunidade em estudo, assim como dos alimentos e modo de prepará-los.
- Para auxiliar na quantificação do tamanho e volume das porções consumidas, será utilizado material de suporte com registros fotográficos.
- O entrevistador deverá estabelecer um canal de comunicação em que se obtenha a informação por meio de um diálogo agradável, uma vez que a qualidade da informação dependerá da memória e da cooperação do entrevistado.
- Respostas precisas e não tendenciosas exigem respeito e atitude neutra diante de hábitos e consumo de alimentos do entrevistado. Para tanto, o entrevistador deverá evitar expressar sentimentos de surpresa, tristeza ou decepção, o que poderia induzir o entrevistado a subestimar ou superestimar a quantidade de alimentos, dependendo da reação que ele observe.

## **Questionário Quantitativo de Frequência Alimentar**

### Definição:

O Questionário Quantitativo de Frequência Alimentar (QQFA) é um método de inquérito alimentar cuja função é obter informações sobre o padrão alimentar e a ingestão de alimentos ou nutrientes específicos. Para tanto, o indivíduo entrevistado responderá com que frequência consome cada item (alimento/preparação ou bebida). Dessa forma, o método prevê a exposição e sua relação com o tempo.

### Metodologia:

O QQFA deve ser aplicado de acordo com as seguintes instruções:

Passo 1: Explique o procedimento da entrevista.

“Gostaria de saber quantas vezes e em qual quantidade o Sr(a) consome os alimentos/bebidas desta lista.”

“O Sr(a) vai me dizer se seu consumo de cada um dos alimentos que eu citar é diário, semanal, mensal, anual ou nunca. Aqui temos uma porção média, o Sr(a) vai me dizer se costuma comer menos que este prato médio (P), se igual (M), se mais que este prato médio (G) ou se muito mais que este prato médio (E)”.

Passo 2: A partir de então, inicie a entrevista com o primeiro alimento da lista.

“Com que frequência o Sr(a) costuma comer sopa?”

“Quantas conchas médias de sopa?”

Passo 3: Ao final de todos os alimentos da lista, pergunte:

“O Sr(a) consome algum alimento que não foi mencionado?”





# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)