UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA

FABIANA CORDEIRO JULIANI

Aspectos metabólicos e funcionais da lipoproteína de alta densidade (HDL) em pacientes com hipercolesterolemia familiar e doença arterial coronária subclínica

São Paulo
2024

Fabiana Cordeiro Juliani

Aspectos metabólicos e funcionais da lipoproteína de alta densidade (HDL) em pacientes com hipercolesterolemia familiar e doença arterial coronária subclínica

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

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão

São Paulo

2024

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

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Juliani, Fabiana Cordeiro

Aspectos metabólicos e funcionais da lipoproteína de alta densidade (HDL) em pacientes com hipercolesterolemia familiar e doença arterial coronária subclínica / Fabiana Cordeiro Juliani; Raul Cavalcante Maranhão, orientador. -- São Paulo, 2024.

Tese (Doutorado) -- Programa de Cardiologia. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2024.

1. HDL-colesterol 2. Lipoproteínas 3. Metabolismo dos lipídeos 4. Hipercolesterolemia familiar 5. Aterosclerose 6. Doença da artéria coronariana I. Maranhão, Raul Cavalcante, orient. II.Título

USP/FM/DBD-083/24

Responsável: Daniela Amaral Barbosa, CRB-8 7533

Nome: JULIANI, Fabiana Cordeiro

Título: Aspectos metabólicos e funcionais da lipoproteína de alta densidade (HDL) em pacientes com hipercolesterolemia familiar e doença arterial coronária subclínica

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

Aprovado em: ____ / ____ / _____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Dedico esta tese ao meu amado Ben e às minhas adoráveis gêmeas Isabella e Antonella. Com todo amor e gratidão, reconheço a compreensão que demonstraram mesmo diante dos meus momentos de ausência. Esta obra é fruto de minha dedicação incansável, e é também uma expressão do imenso carinho que sinto por vocês. Que este trabalho possa ser uma fonte de orgulho para nossa família e um legado de diligência e esforço para as futuras gerações.

Com todo meu amor, mamãe.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão, expresso minha profunda gratidão pela oportunidade e pelo enriquecedor aprendizado proporcionado ao longo deste doutorado.

Aos queridos amigos que fiz durante este período, e que levarei para sempre em minha memória e coração. Vocês tornaram essa jornada mais leve e divertida. Dra. Carol, Aline e Maurício, meu sincero agradecimento.

À Dra. Fatima Freitas pelo acompanhamento ao longo deste processo.

À equipe do Laboratório de Metabolismo e Lípides - Wander, Josefa, Dra. Priscila, Dra. Aleksandra, Débora e Andréia - pelo suporte e acolhimento ao longo desta jornada.

A todos os ex-funcionários e ex-alunos que passaram pelo Laboratório de Metabolismo e Lípides durante o período de desenvolvimento da minha tese e que, de alguma forma, contribuíram para o meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Raul D. Santos, diretor da Unidade de Lípides, minha sincera gratidão pela colaboração em meu projeto e pelo acolhimento em sua unidade. Sua dedicação e profissionalismo são verdadeiras fontes de inspiração.

À Dra. Viviane Zorzanelli Rocha, médica da Unidade de Lípides, serei eternamente grata pela amizade e apoio constantes. Sua habilidade em reconhecer potenciais em mim que eu mesma desconhecia foi fundamental para meu crescimento ao longo de todo o período do doutorado.

Ao Dr. Márcio Miname, médico da Unidade de Lípides, agradeço pelo apoio contínuo, desde o recrutamento dos pacientes até a análise dos dados e discussão dos resultados. Seu suporte foi essencial em todas as etapas do trabalho.

Aos demais médicos da Unidade de Lípides, Dr. Wilson Salgado Filho, Dra. Ana Paula Chacra Marte e Dra. Marjorie Mizuta, expresso minha sincera gratidão pelo suporte proporcionado durante o recrutamento dos pacientes.

À Profa. Dra. Nágila Raquel Damasceno e à Dra. Rosana de Freitas, pelo valioso enriquecimento nos métodos empregados neste trabalho.

Ao Prof. Dr. José Eduardo Krieger e à Dra. Cinthia Ellim Jannes, pela colaboração fornecida com os dados moleculares dos pacientes.

A todos os docentes da USP que integram o programa de pós-graduação e com os quais tive a oportunidade de conviver e aprender, minha sincera gratidão.

Aos funcionários da coordenação de pós-graduação do InCor - Valdecira, Mônica, Luana, Sidnei e Cintia - pelo suporte essencial ao longo destes anos de doutorado.

Aos pacientes atendidos na Unidade de Lípides que, de forma consentida, concordaram em participar desta pesquisa. Sem a colaboração de vocês, este projeto não teria sido possível.

À minha mãe Izaura pelo apoio inabalável e pela confiança em minha capacidade e determinação. Ao meu padrasto Adriano (*in memoriam*), que partiu dois meses antes da minha matrícula na pós-graduação, mas que se orgulhava da ideia de ter uma filha doutora.

Ao meu esposo, Thiago Juliani, agradeço pelo apoio, compreensão e incentivo ao longo desta jornada acadêmica. Obrigada por estar ao meu lado.

À minha irmã Betânia, por sempre me incentivar nos estudos desde a adolescência e por muitas vezes também me auxiliar com as crianças, juntamente com meu cunhado, Flávio.

À tia Rê, minha babá preferida, por cuidar dos meus filhos ao longo destes anos, permitindo-me dedicar a atenção necessária a este projeto e alcançar este marco.

Agradeço à família do meu esposo, incluindo meus sogros e cunhados, pelo apoio e torcida constante para o sucesso deste projeto. Também expresso minha gratidão aos meus familiares que sempre demonstraram interesse em acompanhar o progresso e se certificar de que tudo estava bem com o projeto.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Viste um homem diligente na sua obra? Perante reis será posto; não será posto perante os de baixa sorte.”

Provérbios 22:29 (ARC)

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

Referências: *American National Standards Institute* (ANSI) adaptado pela *US National Library of Medicine* (NLM)

Universidade de São Paulo. Sistema Integrado de Bibliotecas da USP. *Diretrizes para apresentação de dissertações e teses da USP: parte IV (Vancouver)*. Sistema Integrado de Bibliotecas da USP; Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro, coordenadora; Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro... [et al.]. --3.ed. rev. ampl. mod. - - São Paulo: SIBi/USP, 2016.

Abreviatura dos títulos dos periódicos está de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus.*

RESUMO

Juliani, FC. Aspectos metabólicos e funcionais da lipoproteína de alta densidade (HDL) em pacientes com hipercolesterolemia familiar e doença arterial coronária subclínica [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2024.

A hipercolesterolemia familiar é uma condição genética autossômica codominante que resulta no aumento significativo do LDL-c desde o nascimento. Ela é reconhecida como um dos distúrbios monogênicos mais prevalentes na população em geral, representando fator de alto risco para o desenvolvimento da doença arterial coronária (DAC) precoce. Além do aumento do LDL-c, indivíduos com hipercolesterolemia familiar podem apresentar HDL-c reduzido ou distúrbios no metabolismo da HDL, o que afeta de alguma forma as propriedades antiateroscleróticas da lipoproteína. **Objetivo:** Investigar se as taxas de transferência de colesterol para a HDL e outros parâmetros funcionais e metabólicos da HDL estão associados à presença de DAC subclínica em pacientes com hipercolesterolemia familiar heterozigótica. **Métodos:** Foram avaliados 53 pacientes adultos assintomáticos, de ambos os sexos, com diagnóstico molecular prévio de hipercolesterolemia familiar heterozigótica. Com base na angiotomografia de coronárias para detecção de DAC subclínica, 27 pacientes (51,1±8,3 anos) com lesões ateroscleróticas foram incluídos no grupo HF+DACsc, enquanto 26 pacientes (47,3±8,2 anos) sem lesões foram alocados para o grupo HF. Após a suspensão de medicamentos hipolipemiantes por 30 dias, foram determinados por kits comerciais os lípides plasmáticos e as apolipoproteínas A-I e B. O LDL-c foi estimado pela fórmula de Friedewald. A transferência de colesterol para HDL foi avaliada *in vitro* pela incubação do plasma a 37°C/1h com uma nanopartícula lipídica doadora de lípides marcados radioativamente. A fração HDL foi caracterizada quanto ao diâmetro e subfrações, capacidade antioxidante, atividade da paraoxonase 1 (PON1), concentrações da lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT) e da proteína de transferência de colesterol éster (CETP). **Resultados:** Os grupos HF+DACsc e HF foram semelhantes em relação ao sexo, idade, rastreamento genético, presença de diabetes mellitus tipo 2, glicemia de jejum, HbA1c e uso de medicamentos. A frequência de hipertensão arterial sistêmica não diferiu entre os grupos, mas a pressão arterial sistólica foi mais elevada no grupo HF+DACsc (p=0,017). A história familiar de DAC precoce e os sinais patognomônicos da hipercolesterolemia familiar foram mais frequentes no grupo HF+DACsc (p=0,028 e p=0,014), respectivamente. O índice de massa corporal, a circunferência da cintura e a porcentagem de gordura corporal foram similares em ambos os grupos. Quanto aos aspectos funcionais da HDL, não houve diferença nas transferências de colesterol livre e esterificado para a HDL, capacidade antioxidante da HDL ou atividade da PON1 entre os grupos HF+DACsc e HF. O diâmetro e subfrações da HDL não diferiram entre os dois grupos, assim como a concentração da LCAT. Contudo, o grupo HF+DACsc apresentou concentração maior da CETP (p=0,008). **Conclusão:** O grupo HF+DACsc não apresentou taxas de transferências mais baixas de colesterol para HDL ou ação antioxidante reduzida, entre outros parâmetros relacionados ao metabolismo da HDL que poderiam ter influenciado o desenvolvimento de DAC nesses pacientes. O fato da CETP estar aumentada no grupo HF+DACsc pode sugerir que esta proteína possa ser marcador de presença de DAC na hipercolesterolemia familiar. A maior prevalência de história familiar de DAC precoce e a presença de sinais patognomônicos da hipercolesterolemia familiar no grupo HF+DACsc, sugere que fatores de natureza diversa, não explorados neste estudo, podem ter sido preponderantes para o desenvolvimento de DAC no grupo HF+DACsc.

Palavras-chave: HDL-colesterol. Metabolismo dos lipídeos. Hipercolesterolemia familiar. Aterosclerose. Doença da artéria coronariana.

ABSTRACT

Juliani, FC. Metabolic and functional aspects of high-density lipoprotein (HDL) in patients with familial hypercholesterolemia and subclinical coronary artery disease [thesis]. Sao Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2024.

Familial hypercholesterolemia is an autosomal codominant genetic condition resulting in a significant increase in LDL-c from birth. It is recognized as one of the most prevalent monogenic disorders in the general population, representing high-risk factor for the development of early coronary artery disease (CAD). Besides the increase in LDL-c, individuals with familial hypercholesterolemia may present with reduced HDL-c or HDL metabolism disorders, which in some way affect the antiatherosclerotic properties of the lipoprotein. **Objective:** To investigate whether cholesterol transfer rates to HDL and other functional and metabolic parameters of HDL are associated with the presence of subclinical CAD in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. **Methods:** Fifty-three asymptomatic adult patients of both sexes with molecularly proven diagnosis of heterozygous familial hypercholesterolemia were evaluated. Based on coronary CT angiography for subclinical CAD detection, 27 patients (51.1±8.3 years) with atherosclerotic lesions were included in the FH+scCAD group, while 26 patients (47.3±8.2 years) without lesions were allocated to the FH group. After discontinuation of lipid-lowering medications for 30 days, plasma lipids and apolipoproteins A-I and B were determined using commercial kits. LDL-c was estimated by the Friedewald formula. Cholesterol transfer to HDL was assessed *in vitro* by incubating plasma at 37°C/1h with radioactively labeled lipid donor nanoparticle. The HDL fraction was characterized regarding diameter and subfractions, antioxidant capacity, paraoxonase 1 (PON1) activity, lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) concentrations, and cholesteryl ester transfer protein (CETP) concentrations. **Results:** The FH+scCAD and FH groups were similar regarding sex, age, genetic screening, presence of type 2 diabetes mellitus, fasting glucose, HbA1c, and medication use. The frequency of systemic arterial hypertension did not differ between the groups, but systolic blood pressure was higher in the FH+scCAD group (p=0.017). Family history of early CAD and pathognomonic signs of familial hypercholesterolemia were more frequent in the FH+scCAD group (p=0.028 and p=0.014), respectively. Body mass index, waist circumference, and percentage of body fat were similar in both groups. Concerning HDL functional aspects, there was no difference in free and esterified cholesterol transfers to HDL, HDL antioxidant capacity, or PON1 activity between the FH+scCAD and FH groups. The diameter and subfractions of HDL did not differ between the two groups, as well as the concentration of LCAT. However, the FH+scCAD group had a higher CETP concentration (p=0.008). **Conclusion:** The FH+scCAD group did not present lower cholesterol transfer rates to HDL or reduced antioxidant action, among other parameters related to HDL metabolism that could have influenced CAD development in these patients. The fact that CETP was increased in the FH+scCAD group may suggest that this protein could be a marker of CAD presence in familial hypercholesterolemia. The higher prevalence of a family history of early CAD and the presence of pathognomonic signs of familial hypercholesterolemia in the FH+scCAD group suggest that diverse factors, not explored in this study, may have been predominant for CAD development in the FH+scCAD group.

Keywords: Cholesterol, HDL. Lipid metabolism. Familial hypercholesterolemia. Atherosclerosis. Coronary artery disease.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Subclasses da HDL determinadas por diferentes métodos analíticos 30

Figura 2. Metabolismo da HDL e transporte reverso do colesterol (TRC) 31

Figura 3. Perfil da HDL apresentando principalmente subfrações de tamanho grande 46

Figura 4. Gráfico obtido na análise da capacidade antioxidante da HDL 47

Figura 5. Fluxograma de inclusão dos pacientes no estudo 51

Figura 6. Gráfico de associação univariada relacionada à doença arterial coronária (DAC) subclínica em pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica 59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados demográficos, história clínica e uso de medicamentos de pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica 52

Tabela 2. Grau de calcificação coronária de pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica 54

Tabela 3. Perfil lipídico basal e sob terapia hipolipemiante, e Lp(a) de pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica 55

Tabela 4. Avaliação do estado nutricional de pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica 56

Tabela 5. Diâmetro e subfrações da HDL de pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica 57

Tabela 6. Características funcionais e metabólicas da HDL de pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica 57

Tabela 7. Capacidade antioxidante da HDL e atividade da paraoxonase 1 (PON1) de pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica 58

Tabela 8. Associações multivariadas relacionadas à doença arterial coronária (DAC) subclínica em pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica 60

Tabela 9. Correlações entre escore de Agatston, perfil lipídico, parâmetros funcionais e metabólicos da HDL, e antropometria de pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica 64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABCA1	Gene que codifica a proteína ABCA1
^{14}C	Isótopo radioativo do carbon - Carbono 14
^{3}H	Isótopo radioativo do hidrogênio - Trítio
ABCA1	ATP-binding cassette transporter A1
ABCG1	ATP-binding cassette transporter G1
ACMG	*American College of Medical Genetics and Genomics*
AMP	*Association for Molecular Pathology*
Angio-TC	Angiotomografia
Apo	Apolipoproteína
APOB	Gene da Apolipoproteína B
APOE	Gene da Apolipoproteína E
AUC	*Area Under the Curve*
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CC	Circunferência da Cintura
CE	Colesterol Esterificado
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CETP	*Cholesteryl Ester Transfer Protein*
CL	Colesterol Livre
CT	Colesterol Total
DAC	Doença Arterial Coronária
DCV	Doenças Cardiovasculares
DCVA	Doença Cardiovascular Aterosclerótica
DO	Densidade óptica
DP	Desvio padrão
DRC	Doença Renal Crônica
Dutch MEDPED	*Dutch Lipid Clinic Network*
EA	Espondilite Anquilisante
ERFC	*Emerging Risk Factors Collaboration*
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
GWAS	*Genome-Wide Association Study*
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

HDL-c	Colesterol de Lipoproteína de Alta Densidade
HF	Hipercolesterolemia familiar
HF+DACsc	Hipercolesterolemia familiar e DAC subclínica
HR	*Hazard Ratio*
HU	Unidades *Hounsfield*
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
ICAM-1	*Intercellular Adhesion Molecule-1*
IDL	Lipoproteína de Densidade Intermediária
IFN-γ	*Interferon Gamma*
IL-1	Interleucina-1
IMC	Índice de |Massa Corporal
InCor	Instituto do Coração
IQR	*Interquartile Range*
LCAT	Gene da que codifica a enzima LCAT
LCAT	*Lecithin:Cholesterol Acyltransferase*
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LDL-c	Colesterol da Lipoproteína de Baixa Densidade
LDLox	Lipoproteína de Baixa Densidade oxidada
LDLR	Gene do Receptor de LDL
LDLR	Receptor de LDL
LDLRAP1	Gene que codifica a Proteína Adaptadora do LDLR tipo 1
LES	Lúpus Eritematoso Sistêmico
LIPG	Gene que codifica a lipase endotelial
Lp(a)	Lipoproteína(a)
MACE	*Major Adverse Cardiovascular Events*
MCP-1	*Monocyte Chemotactic Protein-1*
MLPA	*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*
NCCPC	*National Collaborating Centre for Primary Care*
NGS	*Next-Generation Sequencing*
PCSK9	Gene que codifica a pró-proteína PCSK9
PCSK9	*Pró-proteína Convertase Subtilisina/Kexina tipo 9*
PDGF	*Platelet-Derived Growth Factor*
PLox	Fosfolipídios oxidados
PLTP	*Phospholipid Transfer Protein*

PON1	Paraoxonase 1
SCA	Síndrome Coronariana Aguda
SCCT	*Society of Cardiovascular Computed Tomography*
SNP	*Single Nucleotide Polymorphism*
SR-BI	*Scavenger Receptor Class B Type 1*
STAP1	Gene do membro 1 da Proteína Adaptadora de Transdução de Sinal
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TG	Triglicérides
TGF-β	*Transforming Growth Factor Beta*
TNF-α	Fator de necrose tumoral-alfa
TNT	*Treating to New Target*
TRC	Transporte Reverso do Colesterol
USA MEDPED	*Make Early Diagnosis Prevent Early Death Program*
VCAM-1	*Vascular Cell Adhesion Molecule-1*
VLDL	Lipoproteína de Muito Baixa Densidade
WHO	*World Health Organization*

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
µL	microlitro
<	menor
>	maior
Δ	delta
∑	somatória
≤	menor ou igual a
≥	maior ou igual a
®	marca registrada
µg	micrograma
µm	micrômetro
dL	decilitro
g	grama
Kg	quilogramas
L	litro
m	metros
M	molaridade
mA	miliamperes
mg	miligrama
ml	mililitros
mmol	milimoles
nm	nanômetro
nMol	nanomoles
ºC	graus Celsius
p	probabilidade
ph	potencial de hidrogênio
rpm	rotação por minuto
U	unidade
α	alfa
β	beta
γ	gama
σ	sigma

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 20
1.1 Hipercolesterolemia familiar 20
1.2 Efeito cumulativo da exposição ao LDL-c 23
1.3 Aterosclerose 24
1.4 HDL-c e doenças cardiovasculares 26
1.5 Estrutura e metabolismo da HDL 29
1.6 Nanopartícula lipídica como instrumento em investigação fisiopatológica 34
2 JUSTIFICATIVA 35
3 OBJETIVOS 36
3.1 Geral 36
3.2 Específico 36
4 HIPÓTESE 37
5 CASUÍSTICA E MÉTODOS 38
5.1. Aspectos éticos e financiamento 38
5.2 Seleção dos participantes 38
5.2.2 Caso: HF+DACsc 38
5.2.3 Controle: HF 38
5.3 Critérios de inclusão 39
5.4 Critérios de exclusão 39
5.5 Diagnóstico molecular de hipercolesterolemia familiar 40
5.6 Diagnóstico de DAC subclínica 41
5.7 Diagnóstico de síndrome metabólica 41
5.8 Avaliação antropométrica 42
5.8.1 Índice de massa corporal (IMC) 42
5.8.2 Circunferência cintura (CC) 42
5.8.3 Gordura corporal (%) 42
5.9 Determinação das das apolipoproteínas A-I e B, e Lp(a) 43
5.10 Determinação do perfil lipídico 43
5.11 Atividade da paraoxonase 1 (PON1) 44
5.12 Concentração da LCAT e da CETP 45
5.13 Diâmetro da HDL 45
5.14 Lipoprint test 45

5.15 Capacidade antioxidante da HDL 46
5.16 Transferência de lípides de uma nanopartícula lipídica para a HDL 48
5.17 Cálculo amostral 49
5.18 Análise estatística 49
6 RESULTADOS 51
7 DISCUSSÃO 65
8 CONCLUSÃO 71
REFERÊNCIAS 72
ANEXOS 90

1 INTRODUÇÃO

1.1 Hipercolesterolemia familiar

A hipercolesterolemia familiar é uma condição genética de herança monogênica autossômica codominante que resulta no aumento significativo do colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) desde o nascimento (Hegele et al., 2019). Ademais, a identificação de estigmas físicos, tais como xantomas tendinosos, xantelasmas e arco corneano constitui sinais clínicos característicos da doença quando presentes (Genest et al., 2014). A hipercolesterolemia familiar é fator de alto risco para o desenvolvimento precoce de doença cardiovascular aterosclerótica (DCVA), especialmente a doença arterial coronária (DAC) (Gidding et al., 2015).

A forma heterozigótica da hipercolesterolemia familiar está diretamente associada a variantes genéticas amplamente reconhecidas nos genes *LDLR, APOB* e *PCSK9* (Sniderman et al., 2014). Contudo, cerca de 50% dos indivíduos com hipercolesterolemia grave podem não apresentar variantes identificáveis nesses genes (Wang et al., 2016; Silva et al., 2017; Mariano et al., 2020). Sendo esse fenômeno atribuído à influência de defeitos genéticos de natureza oligogênica, poligênica ou quantitativa (Natarajan et al., 2018; Tada et al., 2019).

Alterações no gene *LDLR* que codifica o receptor de LDL (LDLR), localizado no braço curto do cromossomo 19, representa a principal causa de hipercolesterolemia familiar, sendo responsável por mais de 90% dos casos geneticamente definidos (Austin et al., 2004). Atualmente, o banco de dados *ClinVar*, principal repositório público internacional de informações relacionadas a doenças mendelianas, registra mais de 2300 variantes únicas associadas a esse gene (Iacocca et al., 2018). Em decorrência disso, um encontro de especialistas foi realizado com o objetivo de aprimorar as diretrizes da ACMG/AMP (*American College of Medical Genetics and Genomics/Association for Molecular Pathology*), para estabelecer uma padronização na classificação dessas variantes relacionadas ao gene *LDLR* e aperfeiçoar o diagnóstico molecular da hipercolesterolemia familiar (*Chora et al.*, 2022).

Em indivíduos heterozigotos, com apenas uma cópia do gene afetada, cerca de metade dos LDLR mantêm sua funcionalidade (Santos et al., 2012). Contudo, em homozigotos, nos quais ambas as cópias são afetadas, a atividade residual do receptor varia entre 2% e 25%

(Cuchel et al., 2014). Ambos os fenótipos podem ser devido a manifestação de variantes que provocam a perda de função ou a completa inatividade do receptor. Entretanto, quando essa última condição está associada ao genótipo homozigoto, os indivíduos afetados exibem atividade nula do LDLR (< 2%), o que resulta em LDL-c ainda mais elevado e prognóstico clínico muito desfavorável em comparação com aqueles que apresentam o receptor defeituoso (Moorjani et al., 1993).

Estima-se que de 5 a 10% dos casos de hipercolesterolemia familiar seja devido à presença de variantes no gene *APOB*, que codifica a apolipoproteína (apo) B-100 (Andersen et al., 2016). Menos de 1% dos casos identificados de hipercolesterolemia familiar são causados por variantes com ganho de função no gene *PCSK9*, responsável pela codificação da pró-proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9, *Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin type 9*), uma protease que, em última instância, leva à degradação dos LDLR na superfície dos hepatócitos (Hopkins et al., 2015).

A presença de variantes genéticas em qualquer um dos três genes correlacionados à hipercolesterolemia familiar, a saber, *LDLR*, *APOB* e *PCSK9*, interferem na remoção da LDL por meio de endocitose mediada por receptor. Tal comprometimento resulta em LCL-c elevado, fenótipo clássico descrito em todas as definições da doença (Berberich; Hegele, 2019).

Fenótipo semelhante à hipercolesterolemia familiar heterozigótica foi observado em famílias com variantes ultrarraras no gene *APOE*, que codifica a apo E (Awan et al. 2013), e no gene *STAP1* que codifica o membro 1 da proteína adaptadora de transdução de sinal (Fouchier et al. 2014). Além disso, variantes bialélicas pouco comuns no gene *LDLRAP1*, responsável por codificar a proteína adaptadora do LDLR tipo 1 (LDLRAP1), desencadeiam a forma recessiva da doença, resultando em um fenótipo severo que condiz com o diagnóstico de hipercolesterolemia familiar homozigótica (Garcia et al., 2001).

A hipercolesterolemia familiar se destaca como um dos distúrbios monogênicos mais comuns na população em geral (Kastelein, 2020). Dados de uma abrangente revisão sistemática e metanálise, que abarcou mais de 100 estudos e envolveu aproximadamente 11 milhões de indivíduos, indicam que a prevalência média global da hipercolesterolemia familiar heterozigótica é de 1:313 (Beheshti et al., 2020). Essa prevalência revelou ser 10 vezes superior entre os indivíduos com DAC (1:31), 20 vezes maior em casos de DAC

prematura (1:15), e 23 vezes mais elevada entre aqueles com hipercolesterolemia grave (1:14) (Beheshti et al., 2020).

Estima-se que atualmente 35 milhões de pessoas em todo o mundo tenham hipercolesterolemia familiar, embora apenas cerca de 10% sejam diagnosticadas (Watts et al., 2023). Quanto à prevalência da hipercolesterolemia familiar na população brasileira, o estudo ELSA-Brasil evidenciou a taxa de um caso para cada 263 indivíduos, destacando diferenças étnicas, com maior prevalência entre pardos (1:204) e negros (1:156) em comparação com brancos (1:417) (Harada et al., 2018).

Na presença de efeito fundador, a hipercolesterolemia familiar pode tornar-se mais prevalente, atingindo frequência tão elevada quanto 1 caso em 80 indivíduos. Isso foi observado em algumas comunidades franco-canadenses que residem em áreas específicas da província de Quebec (Paquette; Genest; Baass, 2018), assim como em diferentes populações sul-africanas (Smyth; Ramsay; Raal, 2018). Por outro lado, em algumas regiões da Islândia, a prevalência da doença mostrou-se significativamente menor, com apenas um caso em cada 836 indivíduos, sendo este o limite global inferior da hipercolesterolemia familiar heterozigótica (Björnsson et al., 2021).

Para promover a uniformidade e formalização do diagnóstico clínico da hipercolesterolemia familiar, critérios específicos, reconhecidos por diretrizes internacionais e nacionais, têm sido recomendados, entre eles estão: o critério do programa norte-americano "*Make Early Diagnosis Prevent Early Death Program*" (USA MEDPED), da rede holandesa "*Dutch Lipid Clinic Network*" (*Dutch* MEDPED), e do grupo britânico "*Simon Broome Register Group*" (Nordestgaard et al., 2013; Gidding et al., 2015; Mach et al., 2020; Watts et al., 2023). No contexto brasileiro, a mais recente Atualização da Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar recomenda a adoção do critério *Dutch* MEDPED quando houver suspeita diagnóstica (Izar et al., 2021).

Essas ferramentas apresentam vantagens substanciais ao não se restringirem à avaliação do LDL-c, integrando elementos adicionais como história familiar de hipercolesterolemia ou DAC precoce, manifestação clínica de depósito de colesterol extravascular, e identificação de variantes “patogênicas” ou “provavelmente patogênicas” relacionadas à hipercolesterolemia familiar (Haase; Goldberg, 2012). Essa estratégia simplifica o diagnóstico preciso da doença, conforme destacado pelo NCCPC (*National*

Collaborating Centre for Primary Care) em 2008. O rastreamento genético é essencial para caracterizar o defeito genético, possibilitando a indicação do teste para os familiares em situação de risco (Sturm et al., 2018). Além disso, pode ser um recurso precioso para facilitar a adesão do paciente à terapia medicamentosa (Sniderman et al., 2014).

1.2 Efeito cumulativo da exposição ao LDL-c

Com o objetivo de averiguar a relação causal entre o LDL-c e o desenvolvimento de DCVA, a Sociedade Europeia de Aterosclerose conduziu uma análise abrangente que integra dados de meta-análises de estudos genéticos, coortes epidemiológicas e ensaios clínicos randomizados. Esta análise envolveu uma amostra de mais de 2 milhões de indivíduos, com mais de 20 milhões de anos de acompanhamento e aproximadamente 150.000 eventos cardiovasculares. Coletivamente, esses estudos forneceram evidências consistentes e inequívocas sobre a associação entre a exposição vascular ao LDL-c e o risco de DCVA, destacando o efeito amplificado com a exposição prolongada ao longo do tempo (Ference et al., 2017).

Dessa forma, na presença de variantes relacionadas à hipercolesterolemia familiar, condição que envolve exposição contínua a concentrações elevadas de LDL-c ao longo da vida, estabelece-se uma clara distinção entre essa forma de dislipidemia primária e outras condições similares (Khera et al., 2016). Em termos mais específicos, no cenário da hipercolesterolemia familiar, o início e a progressão da aterosclerose estão intrinsecamente associados à carga cumulativa derivada da exposição ao LDL-c, sendo essa relação tanto mais precoce quanto mais elevado for essa concentração (Gallo et al., 2017). Adicionalmente, um fator complicador é que, nesses indivíduos com variantes identificáveis, uma contribuição poligênica pode somar-se à penetrância da doença (Talmud et al., 2013; Trinder et al., 2020).

O LDL-c em indivíduos com hipercolesterolemia familiar heterozigótica é duas a três vezes mais elevado em comparação com indivíduos normolipidêmicos, resultando em risco 13 vezes maior de desenvolver DAC (Benn et al., 2012). Caso não forem tratados, portadores deste defeito apresentam probabilidade de desenvolver doenças cardiovasculares (DCV) na segunda ou terceira década de vida, (Nordestgaard et al., 2013). A manifestação de DCV incide de maneira proeminente nas coronárias, seguida pelo território arterial periférico e cerebrovascular (Pérez de Isla et al., 2016). Para aqueles que apresentam a forma homozigótica da doença, o LDL-c pode apresentar-se seis a oito vezes mais elevado,

aumentando significativamente o risco de desenvolverem DAC já na primeira década de vida. Na ausência de tratamento, esses indivíduos confrontam o risco de mortalidade decorrente de eventos cardiovasculares antes de atingirem 20 anos de idade (Cuchel et al., 2014).

O desenvolvimento bem-sucedido de terapias eficazes para tratamento da hipercolesterolemia familiar tem contribuído para a redução de eventos cardiovasculares e mortalidade entre esses pacientes (Neil et al., 2004; Versmissen et al., 2008). Essas terapias implicam no gerenciamento do LDL-c por meio do uso de medicamentos hipolipemiantes (Watts et al., 2024). Portanto, a adoção das diretrizes atuais para o diagnóstico precoce, seja por meio de triagem oportunista, em cascata ou universal, juntamente com o início imediato do tratamento apropriado e ajustes no estilo de vida, são medidas essenciais para diminuir o risco de DCVA e aumentar a expectativa de vida desses indivíduos (Ray et al., 2023).

1.3 Aterosclerose

A visão contemporânea da aterosclerose a define como uma condição inflamatória multifatorial e dinâmica, que se manifesta de forma altamente variável e imprevisível (Libby, 2021). Isso inclui desde eventos súbitos de oclusão arterial aterotrombótica até a presença de placas ateroscleróticas discretas e estáveis, ou mesmo em processo de regressão (Libby et al., 2019).

A patogênese da doença aterosclerótica tem início com a infiltração e o acúmulo de gordura na íntima, mediados por um endotélio disfuncional e permeável a macromoléculas plasmáticas, como o LDL-c (Davignon; Ganz, 2004). Em seguida, ocorrem alterações bioquímicas, tais como glicação, formação de complexos lipídicos modificados e ativação de enzimas pró-inflamatórias, contribuindo para a modificação das partículas de LDL em moléculas pró-inflamatórias (Steinberg et al., 1989). No entanto, embora os lípides desempenhem papel notável na etiologia desse fenômeno, a inflamação assume um importante papel em todas as fases do processo aterosclerótico, desde o surgimento das lesões fibrogordurosas até a ocorrência dos desfechos isquêmicos (Libby, 2023).

As partículas de LDL oxidadas (LDLox) desencadeiam o processo inflamatório ao fornecerem neoepítopos que estimulam a resposta inflamatória humoral e adaptativa, promovendo a expressão de moléculas de adesão leucocitária, como a VCAM-1 (*Vascular Cell Adhesion molecule-1*) e ICAM-1 (*Intercellular Adhesion Molecule-1*). Isso, por sua vez,

facilita o rolamento e, eventualmente, a aderência de monócitos e linfócitos à camada endotelial (Andersson; Libby; Hansson, 2010). Uma vez firmemente aderidos ao endotélio, os leucócitos podem migrar para a região subendotelial sob a influência das quimiocinas. A MCP-1 (*Monocyte Chemotactic Protein-1*) é um exemplo representativo de quimiocina envolvida no processo aterosclerótico (Lin; Kakkar; Lu, 2014).

Na íntima, a LDLox é prontamente capturada por macrófagos, e o depósito de lípides no interior dessas células leva à formação das chamadas "células espumosas" (do inglês, *foam cells*), dando origem à "estria gordurosa" (do inglês, *fatty streak*) (Kattoor; Kanuri; Mehta, 2019). O acúmulo progressivo de células espumosas, colesterol e debris resultam no núcleo lipídico-necrótico no centro da placa. A ativação dos macrófagos presentes nesse ateroma inicial desencadeia a liberação de mediadores inflamatórios, como citocinas, quimiocinas e metaloproteinases, perpetuando os mecanismos inflamatórios locais e impulsionando a progressão da aterosclerose (Ference et al., 2017). Simultaneamente, nesse contexto inflamatório, células musculares lisas migram da camada média para a íntima e proliferam, intensificando a produção de matriz extracelular e consolidando assim a formação da placa (Rocha; Libby, 2009).

Existem diferenças entre as células musculares lisas da camada média quando comparadas com as da íntima. Na íntima, as células musculares lisas exibem reduzida capacidade de sintetizar proteínas ligadas à função contrátil, enquanto mostram habilidade na produção de citocinas, tais como o PDGF (*Platelet-Derived Growth Factor*), TGF-β (*Transforming Growth Factor Beta*), IFN-γ (*Interferon Gamma*) e da proteína quimiotática MCP-1 (Michel; Li; Lacolley, 2012). Ademais, apresentam índice proliferativo mais elevado, maior habilidade em sintetizar colágeno e elastina, além de serem mais eficientes em migrar e capturar lípides quando comparadas aos seus homólogos contráteis (Shi et al., 2020). Células musculares lisas ativadas podem apresentar aumento na expressão de moléculas de adesão, como VCAM-1 e ICAM-1, o que indica sua habilidade em interagir com leucócitos. No entanto, a função primordial dessas células é a produção de matriz extracelular, crucial para o remodelamento da placa aterosclerótica e para sua estabilidade ou instabilidade (Bennett; Sinha; Owens, 2016).

Inicialmente, acreditava-se que a aterosclerose era uma doença que, ao evoluir, invadia a luz do vaso arterial, chegando ao ponto de eventualmente bloquear o fluxo sanguíneo. No entanto, contribuições significativas de pesquisas na área mostraram que o desenvolvimento

das lesões pode ser acompanhado por aumento compensatório do diâmetro da luz do vaso, resultando na maior parte da lesão inicial ocorrendo fora da luz arterial (Glagov et al., 1987). Em outras palavras, é possível que grandes ateromas coexistam com artérias que preservam a luz de forma relativamente intacta. A manutenção do diâmetro do vaso pode persistir por um período considerável durante o desenvolvimento da lesão, mesmo à medida que esta avança para as camadas íntima e média (Nissen, 2002; Nicholls et al., 2006).

A incorporação de sais de cálcio na placa, caracterizada pela calcificação, desempenha um importante papel na estabilização dessa estrutura, mas simultaneamente contribui para a rigidez e estreitamento das artérias, intensificando a obstrução do fluxo sanguíneo com o tempo. Isso torna a placa propensa a complicações adicionais (Libby, Pasterkamp, 2015). Enquanto a progressão significativa da placa para dentro da luz do vaso pode resultar em obstrução gradual ao fluxo arterial e síndromes isquêmicas estáveis, a rotura ou erosão da placa pode culminar com formação de trombo e oclusão súbita da luz arterial, levando a síndromes isquêmicas instáveis, como a angina instável e o infarto agudo do miocárdio (IAM), culminando no estabelecimento da DCVA (Bentzon et al., 2014)

A susceptibilidade genética e a resposta imune do organismo à injúria desempenham papel determinante na instalação e progressão da doença aterosclerótica (Björkegren; Lusis, 2022). Contudo, o risco de desenvolver DCVA entre indivíduos com hipercolesterolemia familiar é amplamente heterogêneo (Santos, 2019). Nesse contexto, variáveis preditivas independentes têm exercido influência significativa, como sexo masculino, baixas concentrações de colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-c), elevada concentração de lipoproteína(a) [Lp(a)], hipertensão, obesidade, diabetes tipo 2 e tabagismo (Besseling et al., 2014; Langsted et al., 2016; Pérez de Isla et al., 2021). Ademais, a identificação de calcificação das coronárias em indivíduos assintomáticos pode indicar uma subpopulação de risco mais elevado (Miname et al., 2019).

1.4 HDL-c e doenças cardiovasculares

Como descrito em estudos clássicos, entre os quais se destaca o *Framingham Heart Study*, um estudo pioneiro que contribuiu significativamente para a compreensão da epidemiologia cardiovascular, concentrações reduzidas de HDL-c têm consistentemente se associado ao risco de desenvolver DCV (Mahmood et al., 2014). Os primeiros resultados relacionados ao HDL nessa coorte já mostraram a relação inversa entre o HDL-c e a

incidência de DAC (Gordon et al., 1977). No mesmo ano, ao estudar outras coortes americanas de diferentes etnias, Castelli el al., (1977) constataram que indivíduos com DCV exibiam HDL-c mais baixo em comparação com indivíduos saudáveis. A partir daí, foi-se estabelecendo a base para o conceito do HDL-c como o "bom colesterol", e à "Hipótese do HDL-colesterol" (Rader, Hovingh, 2014).

Em 2009, a *Emerging Risk Factors Collaboration* (ERFC) conduziu uma análise abrangente que reuniu dados de 68 estudos prospectivos com mais de 300.000 participantes sem histórico de doença vascular. O objetivo foi investigar as relações entre as principais lipoproteínas plasmáticas e o risco de DCV. Durante o estudo, o HDL-c e o não HDL-c apresentaram associações robustas, porém em direções opostas. Inicialmente, a análise de regressão mostrou diminuição na razão de risco (HR, *Hazard Ratio*) para DCV associada ao HDL-c (HR 0,78, IC 95% 0,74-0,82), indicando redução de 22% no risco de eventos cardiovasculares em indivíduos com HDL-c mais elevado. O incremento de 15 mg/dL no HDL-c, juntamente com a redução de 80 mg/dL no não HDL-c, metas potencialmente alcançáveis por meio do uso de medicamentos hipolipemiantes disponíveis, resultou em uma HR de 0,35 (IC 95% 0,30-0,42), ou seja, redução ainda maior no risco.

Dessa forma, o HDL-c se estabeleceu como um importante preditor de risco cardiovascular. Essa relação permaneceu consistente em diversos ensaios clínicos randomizados que investigaram pacientes em uso de estatinas. Mesmo em indivíduos com LDL-c inferior a 50 mg/dL, baixas concentrações de HDL-c e apo A-I mostraram-se preditivas de eventos cardiovasculares adversos maiores (MACE, *Major Adverse Cardiovascular Events*), como evidencia uma metanálise que consolidou dados de oito estudos relevantes: 4S, AFCAPS-TexCAPS, LIPID, CARDS, TNT, IDEAL, SPARCL e JUPITER (Boekholdt et al., 2013). A partir da observação inicial derivada de estudos observacionais e corroborada por estudos clínicos, foram iniciadas investigações sobre diferentes associações relacionadas à HDL, como sua correlação com a longevidade, entre outros aspectos (Rahilly-Tierney et al., 2011; Newman et al., 2011).

No entanto, mais recentemente, análises de coortes prospectivas mostraram uma associação paradoxal entre o HDL-c e mortalidade. Esses dados indicam que tanto baixo HDL-c quanto concentrações extremamente altas estão associadas ao aumento no risco de mortalidade por todas as causas (Madsen; Varbo; Nordestgaard, 2017). Enquanto a associação

com níveis baixos de HDL-c concorda com o risco aumentado repetidamente observado de DCVA, a maior mortalidade associada a concentrações extremamente altas de HDL-c é menos compreendida, suscitando questões ainda não esclarecidas sobre se HDL-c elevado tem efeito prejudicial à saúde (Madsen; Varbo; Nordestgaard, 2021).

Estudos de randomização mendeliana indicam que mudanças no HDL-c devido a alterações genéticas não necessariamente estão associadas a modificações no risco de DCV. Explorando um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP, *Single Nucleotide Polymorphism*) no gene da lipase endotelial (*LIPG*), associado a concentrações mais altas de HDL-c, Voight et al. (2012) não encontraram evidências de risco reduzido de IAM entre os portadores do SNP. Por outro lado, ao examinarem se a redução do HDL-c devido a quatro variantes heterozigotas no gene *ABCA1* poderia resultar em maior risco de doença cardíaca isquêmica, Frikke-Schmidt et al. (2008) constataram que não houve aumento no risco para os indivíduos afetados. Reforçando esses achados, Haase et al. (2012) concluíram que a redução do HDL-c devido a uma variante específica no gene *LCAT* não se associou com risco aumentado de IAM.

Além dos estudos genéticos, ensaios clínicos randomizados com medicamentos destinados a elevar o HDL-c não mostraram redução nos eventos cardiovasculares. A niacina, quando combinada com estatinas, não mostrou benefício clínico adicional para pacientes com DCV, apesar do aumento de 25% no HDL-c (AIM-HIGH *Investigators* et al., 2011). A maioria dos inibidores da proteína de transferência de éster de colesterol (CETP, *Cholesteryl Ester Transfer Protein*), como torcetrapibe, dalcetrapibe e evacetrapibe, não mostraram redução no risco de eventos cardiovasculares (Barter et al., 2007, Schwartz et al., 2012; Lincoff et al., 2017). Contrariamente, o anacetrapibe reduziu os eventos cardiovasculares em 9%, devido à significativa redução do LDL-c e da apo B (HPS3/TIMI55–REVEAL *Collaborative Group* et al., 2017). O obicetrapibe, o mais recente inibidor da CETP, quando combinado com estatina de alta potência, não apenas aumentou o HDL-c em até 165%, como também reduziu o LDL-c e a apo B em até 51% e 30%, respectivamente (Nicholls et al., 2022). Para esse último inibidor, um ensaio clínico de desfecho em curso sugere redução substancial em MACE (Nelson et al., 2022).

Assim, o novo paradigma consolidou a concepção de que a HDL transcende sua função primária como lipoproteína transportadora de colesterol, apresentando múltiplas

propriedades adicionais (Navab et al., 2011). Além disso, a HDL constitui uma família complexa de partículas, composta por subespécies com variações em tamanho, densidade, forma, carga e composição, sujeitas a processos contínuos de remodelamento na circulação (Asztalos et al., 2011). Essa heterogeneidade de partículas explica por que a HDL nem sempre é considerada “antiaterogênica”, podendo, em alguns casos, tornar-se disfuncional ou até mesmo “pró-aterogênica” (Pirillo; Cataparro; Norata, 2019). Assim, não é surpreendente que estudos mais recentes sugiram que medidas relacionadas a diferentes funções da HDL possam contribuir para a previsão de risco ou mesmo servir como preditoras de eventos cardiovasculares (Mackey et al., 2012; Rohatgi et al., 2014; Ajala et al., 2020).

1.5 Estrutura e metabolismo da HDL

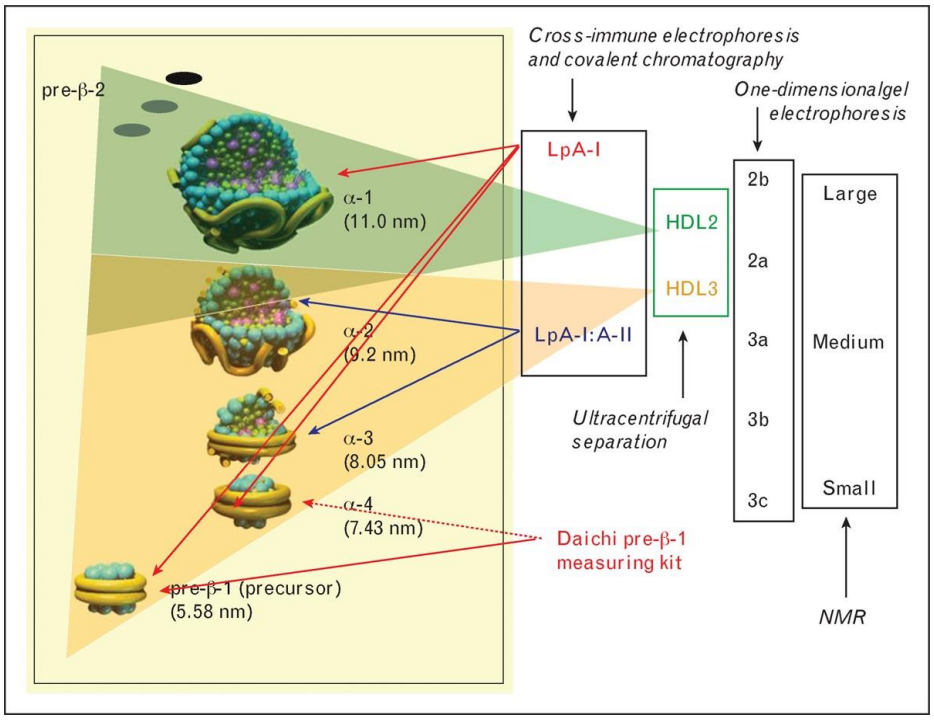
A HDL é a menor das lipoproteínas, com diâmetro entre 7 e 13 nm (Rosenson et al., 2011). Contudo, apresenta elevado conteúdo proteico, que constitui mais de 50% de sua massa total, resultando em alta densidade de 1,063 a 1,210 g/mL (Havel; Eder; Bragdon, 1955). As proteínas na HDL contribuem para o equilíbrio dos componentes lipídicos, proporcionando-lhe estabilidade estrutural. Nesse cenário, as apos A-I e A-II compreendem cerca de 65% e 15% do total de proteínas, respectivamente (James et al., 1988). As demais proteínas encontradas na HDL podem ser categorizadas como "proteínas específicas" ou "proteínas acessórias". As “proteínas específicas” como a lecitina colesterol aciltransferase (LCAT, *Lecithin-Cholesterol Acyltransferase*), a CETP e a paraoxonase 1 (PON1) encontram-se associadas a HDL, embora presentes em menos de uma cópia por partícula. Quanto às “proteínas acessórias”, essas mantêm associação tênue com a HDL, desempenhando, no entanto, funções biológicas importantes (Von Eckardstein et al., 2023).

O proteoma da HDL interage de maneira complexa com diferentes receptores, direcionando o fluxo e o metabolismo lipídico circundante, ao mesmo tempo que a lipoproteína propriedades singulares. O *HDL Proteome Watch*, um projeto cuja missão é divulgar a base molecular subjacente aos papéis da HDL frente à doenças metabólicas e inflamatórias, catalogou até o momento 285 proteínas associadas à HDL, sendo a maioria delas consideradas “proteínas acessórias” (Davidson et al., 2022).

A HDL pode ser separada em diferentes subclasses por meio de múltiplos métodos analíticos, todos baseados nas várias propriedades físico-químicas da lipoproteína, tais como densidade, tamanho, mobilidade eletroforética e conteúdo de apolipoproteínas (Figura 1).

Cada uma dessas características é determinada pelas concentrações de proteínas ou lipídios nas distintas partículas. Essa diferenciação na composição e configuração das partículas contribui para a complexidade funcional da HDL, influenciando em suas diversas funções desempenhadas durante o transporte de lípides. O desenvolvimento e avanços dessas metodologias tem visado, principalmente, a identificação de subfrações da HDL com potencial relevância na previsão do risco cardiovascular (Asztalos et al., 2011).

Figura 1. Subclasses da HDL determinadas por diferentes métodos analíticos



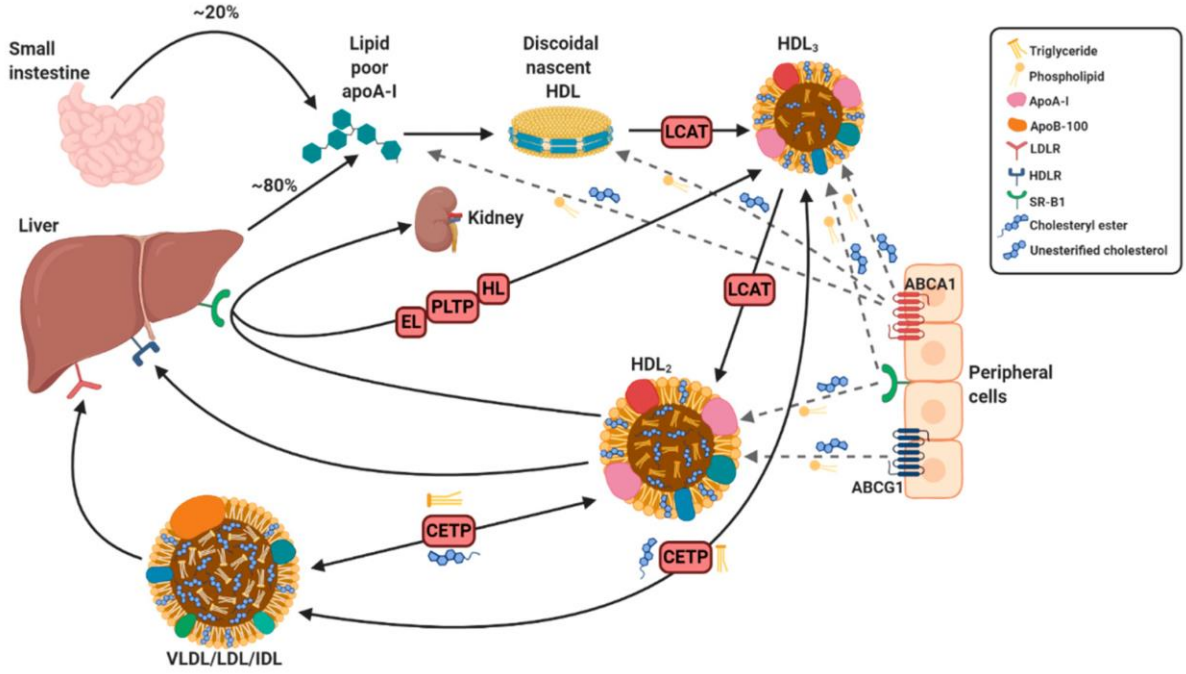
Legenda: O lado esquerdo da figura ilustra as HDLs (lipoproteína de alta densidade), desde as partículas maiores (pré-β-2 HDL) até as menores (pré-β-1 HDL). Por meio da cromatografia covalente (*Cross-imune electrophoresis and covalent chromatography*), são isoladas as lipoproteínas: (LpA-I) e LpA-I:LpA-II. Com base na densidade, a ultracentrifugação (*Ultracentrifugal separation*) separa as HDLs em subfrações menos densas 'HDL2' e mais densas 'HDL3'. A eletroforese em gel (*One-dimensional gel electrophoresis*) separa diferentes HDLs de acordo com a relação massa:carga, o que pode não se relacionar com densidade ou tamanho. A ressonância magnética nuclear (NMR, *Nuclear Magnetic Resonance*) separa as HDLs com base no tamanho.
Fonte: Asztalos et al., (2011).

Partículas esféricas de HDL possuem um núcleo lipídico neutro hidrofóbico, composto predominantemente por 14 a 18% de colesterol esterificado (CE) e uma pequena quantidade de triglicérides (3 a 6%). Esse núcleo é circundado por uma monocamada de fosfolípides (20 a 30%) e de 3 a 5% de colesterol livre (CL), onde as apolipoproteínas são incorporadas e várias proteínas se ancoram. Por outro lado, partículas discoidais da HDL, desprovidas de lípides neutros, consistem apenas de apo A-I e uma monocamada de fosfolípides e CL. As

partículas esféricas da HDL contêm pelo menos três moléculas de apo A-I, ao passo que as partículas discoidais apresentam duas (Martin; Jones; Toth, 2014).

A Figura 2 ilustra o metabolismo da HDL e o transporte reverso do colesterol (TRC), um processo biológico multifásico. Esse processo envolve a remoção e transporte do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado, onde é eliminado nas fezes ou reciclado após reabsorção intestinal. A HDL desempenha papel vital nesse processo, interagindo com diversos transportadores e proteínas de transferência, contribuindo para a defesa do organismo contra a aterogênese ao facilitar o efluxo do colesterol de macrófagos na íntima (Tall, 1998).

Figura 2. Metabolismo da HDL e transporte reverso do colesterol (TRC)



Legenda: A apo A-I é sintetizada primariamente no fígado, mas também no intestino delgado. HDL nascente interage com o transportador ABCA1 (*ATP-binding cassette transporter A1*) iniciando o processo de lipidação no plasma. A interação da HDL com os transportadores ABCA1, ABCG1 (*ATP-binding cassette transporter G1*) e SR-BI (*Scavenger Receptor Class B Member I*) e a esterificação do colesterol livre (*Unesterified cholesterol*) pela ação da lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT, *Lecithin-Cholesterol Acyltransferase*) promove a maturação da partícula, que adquire a forma esférica, HDL3 e em seguida HDL2. O colesterol é então transportado diretamente para o fígado via receptores específicos ou indiretamente por meio da interação da HDL2 com a VLDL, IDL e LDL ao transferir colesterol esterificado (*Cholesteryl ester*) para essas lipoproteínas em troca de triglicérides via proteína de transferência de colesterol éster (CETP, *Cholesteryl Ester Transfer Protein*). Lipase hepática (HL, *Hepatic Lipase*); Lipase endotelial (LE, *Endothelial Lipase*); Proteína de transferência de fosfolípides (PLTP, *Phospholipid Transfer Protein*).
Fonte: Márquez et al., (2020).

Lançada na corrente sanguínea como partículas discoidais e achatadas, denominadas HDL nascente ou pré-β-1 HDL, a formação da HDL é centrada na apo A-I. A síntese da apo

A-I ocorre primariamente no fígado, representando cerca de 80%, enquanto aproximadamente 20% têm origem na mucosa do intestino delgado (Márquez et al., 2020). Em contraste com as lipoproteínas que contêm apo B, a lipidação da HDL acontece principalmente no compartimento plasmático, não no citoplasma. (Maric et al., 2005).

Na circulação, essas partículas pobres em lípides recebem CL e fosfolípides originados de células periféricas, especialmente hepatócitos, enterócitos e macrófagos, por meio de sua interação com o transportador ABCA1 (*ATP-binding cassette transporter A1*). A esterificação do colesterol na HDL ocorre pela ação da LCAT, da qual a apo A-I é cofator (Segrest; Harvey; Zannis, 2000). Após esterificação, o colesterol torna-se ainda mais hidrofóbico e, consequentemente, migra da superfície da partícula para o seu núcleo. A esterificação do colesterol pela LCAT inibe a transferência reversa do CL para essas células. Esse processo favorece a maturação da HDL e é fundamental para a estabilização do pool plasmático do colesterol (Kunnen; Van Eck, 2012).

Após adquirir forma esférica e ligeiramente maior denominada HDL3, essa nova subfração passa a interagir também com o transportador ABCG1 (*ATP-binding cassette transporter G1*), presente em diversas outras células, incluindo células do sistema imunológico, células do sistema nervoso central e células adiposas. Devido à esterificação contínua do colesterol, essas partículas assumem a forma madura da lipoproteína, denominada HDL2 (Castro; Fielding, 1988). O CE na HDL pode ser então eliminado diretamente via captação seletiva pelo SR-BI hepático (*Scavenger Receptor Class B Type I*) ou capturado pelos hepatócitos por meio de um mecanismo ainda pouco compreendido (Zanoni et al., 2018). Alternativamente, ocorre a eliminação indireta do colesterol após transferência mediada pela CETP para outras lipoproteínas, como VLDL e LDL, as quais serão subsequente internalizadas pelos LDLR.

A HDL é constantemente remodelada pela troca de lípides plasmáticos entre as classes de lipoproteínas. A transferência de lípides é um processo bidirecional que depende tanto da estrutura das lipoproteínas doadoras e receptoras, quanto da ação de proteínas de transferência como a CETP e a proteína de transferência de fosfolípides (PLTP, *Phospholipid Transfer Protein*). A CETP, uma glicoproteína hidrofóbica sintetizada no fígado, possui homólogos identificados em mais de 20 espécies. Sua função é facilitar a troca de lípides neutros, como CE e triglicérides, entre as partículas de HDL e aquelas que contêm apo B-100. Nesse

processo, a HDL recebe triglicérides tanto das partículas de VLDL quanto das LDL, enquanto o CE se desloca na direção oposta (Hall; Qiu, 2011). Por outro lado, a PLTP produzida no fígado, mas expressa também no tecido adiposo subcutâneo e visceral, intermedia o transporte de moléculas anfifílicas não específicas como os fosfolípides, CL, vitamina E, diacilglicerídeos e lipopolissacarídeos (Huuskonen et al, 2001).

Inúmeras outras funções são atribuídas à HDL, tais como, anti-inflamatória, antitrombótica, antioxidante, antiapoptótica e de vasodilatação, que parecem exercer papel reparador frente à injúria endotelial, prevenindo a instalação e o desenvolvimento do processo aterosclerótico e suas manifestações clínicas (Navab et al., 2011).

Segundo Cockerill et al. (1995), concentrações fisiológicas de HDL inibem a expressão das moléculas de adesão, VCAM-1, ICAM-1 e E-selectina, ao regular citocinas inflamatórias como o fator de necrose tumoral-alfa (TNF-α) e a interleucina-1 (IL-1). Ademais, Tebet et al. (2014) mostraram que a HDL suprime a expressão da ICAM-1 por meio da transferência de miRNA específico para as células endoteliais. Esses estudos destacam a ação anti-inflamatória da HDL.

A HDL desempenha função antioxidante ao eliminar o hidroperóxido lipídico (LOOH) e fosfolipídios oxidados (PLox) na LDL. Evidências sugerem que a ação antioxidante da HDL sobre a LDL, medida pela redução dos peróxidos lipídicos, provavelmente é mediada pela PON1 (Mackness et al., 1993). Ao analisar a proteômica da HDL e investigar funções biológicas específicas, Davidson et al. (2009) constataram que a apo D, apo F, apo J, apo L-1 e apo M estavam associadas à função antioxidante da HDL. Por fim, a LCAT, uma enzima especializada na esterificação do colesterol na HDL, também tem capacidade de hidrolisar PLox (Goyal et al., 1997).

A HDL desempenha papel de vasodilatação ao promover a produção de óxido nítrico (NO), uma molécula ateroprotetora, por meio do aumento da expressão da sintase endotelial de NO (eNOS, *endothelial Nitric Oxide Synthase*) (Mineo; Shaul, 2012). Além disso, a função antiapoptótica da HDL protege as células endoteliais contra a apoptose induzida pela LDLox e TNF-α, enquanto estimula seu crescimento e migração por meio da sinalização do receptor SR-BI. (Mineo; Shaul, 2007). A HDL possui propriedades antitrombóticas que contribuem para a proteção contra trombose arterial e venosa. Além da ativação da síntese de prostaciclina, essas propriedades incluem a capacidade de regular negativamente a geração de

trombina via proteína C, e de reduzir a ativação e agregação plaquetária, direta e indiretamente (Mineo et al. 2006).

1.6 Nanopartícula lipídica como instrumento em investigação fisiopatológica

O grupo do Laboratório de Metabolismo e Lípides do Instituto do Coração (InCor) desenvolveu uma nanopartícula lipídica artificial com estrutura análoga à LDL, com a finalidade de explorar o metabolismo plasmático da LDL (Maranhão et al., 1993). Em estudo clínico sobre a cinética da LDL, Santos et al. (2003) observaram que, em pacientes com DAC, o CL se dissociou mais facilmente da lipoproteína em comparação com os controles sem DAC. Prosseguindo com as investigações, Couto et al. (2007) constataram que, em pacientes com DAC submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica, houve maior depósito de CL em fragmentos de vasos em comparação com a forma esterificada. Com base nesses achados, foi formulada a hipótese de um novo mecanismo para a aterogênese, no qual o CL se dissocia da lipoproteína e se deposita diretamente no endotélio, favorecendo o processo de aterosclerose.

Em estudos mais recentes, essa nanopartícula lipídica tem sido empregada como doadora de lípides para avaliar simultaneamente as transferências de CL, CE, triglicérides e fosfolípides para a HDL (Lo Prete et al., 2009). Essa abordagem tem sido aplicada na investigação do metabolismo da HDL em diferentes contextos fisiológicos e patológicos (Vaisberg et al., 2012; Vinagre et al., 2014; De Oliveira et al., 2017; Giribela et al., 2009). No âmbito da DAC, estudos mostraram que a transferência de CL em pacientes com DAC precoce é reduzida (Maranhão et al., 2012), bem como em pacientes submetidos a transplante cardíaco (Puk et al., 2009), e em pacientes com DAC e histórico de eventos isquêmicos cerebrovasculares (Barbosa et al., 2019). Esses resultados ressaltam a importância de fenômenos ligados ao metabolismo da HDL e ao TRC como fatores pró-aterogênicos.

A transferência de lípides para HDL também foi avaliada previamente em pacientes com hipercolesterolemia familiar heterozigótica. Martinez et al. (2013) constataram que a transferência de CL para a HDL foi menor nesses indivíduos quando comparada com normolipidêmicos. Os autores concluíram que na hipercolesterolemia familiar, aspectos relacionados à função antiaterogênica da HDL podem apresentar-se alterados, indicando um importante fator de risco para aterosclerose nesses indivíduos.

2 JUSTIFICATIVA

Embora a correlação inversa entre o HDL-c e a prevalência de DCVA seja amplamente reconhecida, a compreensão dos aspectos relacionados à função antiaterogênica da HDL faz-se crucial. Essa perspectiva é particularmente intrigante, considerando que alterações no metabolismo da HDL de indivíduos com hipercolesterolemia familiar possam ocorrer independentemente da concentração plasmática da lipoproteína, dada a presença de um perfil lipídico alterado devido ao excesso de partículas de LDL circulantes, entre outros fatores.

Nesse sentido, torna-se relevante investigar quais fatores protetores ou agravantes podem estar envolvidos na etiopatogenia e na progressão de lesões ateroscleróticas em indivíduos com hipercolesterolemia familiar. A abordagem de alterações relacionadas à transferência de colesterol para a HDL, juntamente com a análise de outros parâmetros funcionais e metabólicos relacionados a esta lipoproteína, reveste-se de significativa importância na elucidação da suscetibilidade desses indivíduos à ocorrência de DAC.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Investigar se as taxas de transferência de colesterol para a HDL e outros parâmetros funcionais e metabólicos da HDL estão associados à presença de DAC subclínica em pacientes com hipercolesterolemia familiar heterozigótica.

3.2 Específico

Investigar se pacientes com diagnóstico molecular de hipercolesterolemia familiar heterozigótica apresentam alterações nos parâmetros relacionados à funcionalidade e metabolismo da HDL. Particularmente, será analisada a transferência de colesterol para a HDL, a capacidade antioxidante da HDL e a atividade da PON1, além das concentrações de CETP e LCAT, levando em consideração a presença e a ausência de lesões ateroscleróticas coronárias subclínicas documentadas por angiotomografia. Adicionalmente, será determinado o diâmetro e as subfrações da HDL.

4 HIPÓTESE

Neste estudo, foi postulada a hipótese de que a redução na transferência de colesterol para a HDL, acompanhada de modificações nos outros parâmetros funcionais e metabólicos desta lipoproteína, exerça papel significativo nos processos aterogênicos identificados em pacientes com hipercolesterolemia familiar heterozigótica e DAC subclínica.

5 CASUÍSTICA E MÉTODOS

5.1. Aspectos éticos e financiamento

Projeto de pesquisa aprovado em 08 de novembro de 2018 pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) - Cappesq. Procedimento formalizado por meio do Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) 01398918.7.0000.0068, acompanhado do Parecer Consubstanciado de número 4.889.380 - ANEXO A.

O presente projeto foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), sob o número de processo 2014/03742-0.

5.2 Seleção dos participantes

Este é um estudo caso-controle que investigou a relação entre variáveis de exposição e uma condição patológica específica, sem intervenções. Esta metodologia é voltada para averiguar associações e identificar potenciais fatores de risco ou proteção em um cenário observacional (Schulz; Grimes, 2002).

Os participantes foram selecionados na Unidade Clínica de Lípides do Instituto do Coração (InCor) do HCFMUSP entre o período de 31 de janeiro de 2019 e 10 de julho de 2023. Os pacientes foram pareados com base na idade e no sexo. Com base na angiotomografia de coronárias (Angio-TC) para detecção da DAC subclínica, 27 pacientes foram incluídos no grupo HF+DACsc, enquanto 26 pacientes foram alocados para o grupo HF:

5.2.2 Caso: HF+DACsc – Pacientes com hipercolesterolemia familiar heterozigótica assintomáticos, apresentando lesões ateroscleróticas coronárias, calcificadas ou não, documentadas por Angio-TC de coronárias.

5.2.3 Controle: HF – Pacientes com hipercolesterolemia familiar heterozigótica assintomáticos, sem lesões ateroscleróticas coronárias documentadas por Angio-TC de coronárias.

Durante a fase de recrutamento, os pacientes receberam orientações detalhadas sobre os objetivos da pesquisa e os procedimentos do protocolo. Em seguida, formalizaram sua concordância em participar do estudo ao assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) – ANEXO B.

Os pacientes foram instruídos a suspenderem temporariamente o uso de medicamentos hipolipemiantes, como estatinas, ezetimibe e niacina, por um período de 30 dias. Após esse intervalo, todos os participantes do estudo foram convocados ao Laboratório de Metabolismo e Lípides do InCor para coleta de amostras de sangue, em jejum de 12h. Nesse momento, também foi conduzida a anamnese nutricional e a avaliação antropométrica.

A interrupção permitiu a realização de testes específicos relacionados ao metabolismo da HDL, incluindo a transferência de colesterol para a HDL, mediante o perfil lipídico basal desses pacientes (Lo Prete et al., 2009). No estudo *Treating to New Target* (TNT), a suspensão temporária do uso de estatinas não resultou em aumento no risco de síndromes coronarianas agudas (SCA) em pacientes estáveis do ponto de vista cardiovascular (McGowan, 2004).

5.3 Critérios de inclusão

- Idade ≥ 20 anos;
- Indivíduos de ambos os sexos;
- Diagnóstico molecular de hipercolesterolemia familiar heterozigótica;
- Caso índice e familiar;
- Exame prévio de angiotomografia de coronárias (< 5 anos);

5.4 Critérios de exclusão

- Cirurgia recente (≤ 6 meses);
- Paciente manifestando sintomas cardiovasculares, tais como dor no peito, falta de ar, palpitações, fadiga, tonturas ou desmaios;
- Doença renal crônica (DRC);
- Doenças reumáticas, como a artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico (LES) e espondilite anquilosante (EA);

- Doenças da tireoide, tais como hipertireoidismo, hipotireoidismo e a tireoidite de Hashimoto;
- Gravidez;
- Tabagismo ativo;
- Etilismo crônico;

5.5 Diagnóstico molecular de hipercolesterolemia familiar

A avaliação inicial da hipercolesterolemia familiar heterozigótica envolveu a detecção de variantes categorizadas como "patogênicas" ou "provavelmente patogênicas" nos genes *LDLR*, *APOB* e *PCSK9*. Essas informações foram coletadas dos prontuários médicos dos pacientes. Contudo, o teste molecular incluiu o sequenciamento de nova geração (NGS, Next-Generation Sequencing) e a técnica que combina a amplificação de ácidos nucleicos com a detecção simultânea de múltiplas sequências de DNA (MLPA, *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*), seguindo o protocolo delineado por Silva et al. (2017). Essas etapas foram executadas em conformidade com as diretrizes estabelecidas pela ACMG (Richards et al., 2015).

5.6 Diagnóstico de DAC subclínica

A angio-TC de coronárias, amplamente reconhecida como o padrão-ouro em métodos diagnósticos não invasivos (Miller et al., 2008; Budoff et al., 2008; Meijboom et al., 2008), possibilita a detecção de DAC subclínica ao viabilizar a detecção de placas calcificadas ou não, obstrutivas ou não (Petranovic et al., 2009). Assim, diferentes graus de atenuação na Angio-TC de coronárias, abrangendo placas não calcificadas, placas mistas e placas calcificadas, são prontamente identificadas (Maurovich-Horvat et al., 2010).

Durante o exame de Angio-TC de coronárias o escore de Agatston é obtido pela identificação da calcificação das coronárias e determinado pela presença de lesão com área superior a 1 mm² e intensidade de pico igual ou superior a 130 Unidades *Hounsfield* (HU). Esta métrica específica avalia a quantidade de cálcio presente nas coronárias (Agatston et al., 1990). Empregado na estimativa do risco de DAC, seu cálculo implica na multiplicação da área de cada lesão de cálcio por um fator de densidade, conforme a fórmula geral:

$$\textbf{Escore de Agatston} = \sum \textbf{(Área da Lesão} \times \textbf{Fator de Densidade)}$$

O resultado consiste numa pontuação que pode variar de zero (sem cálcio detectável) a valores muito elevados (> 1000), indicando maior presença de cálcio e possivelmente maior risco de eventos cardiovasculares.

O escore de Agatston foi interpretado e classificado da seguinte maneira:

- Utilizando os valores absolutos;
- Empregando os valores ajustados para idade, sexo e etnia de acordo com os percentis de distribuição na população geral, com base nos dados populacionais do estudo MESA (*Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis*) (McClelland et al., 2006).

Além disso, foram utilizados pontos de corte fixos estabelecidos pela SCCT (*Society of Cardiovascular Computed Tomography*) para estimar o risco cardiovascular (Golub et al., 2023):

- **Escore de Agatston Zero:** Muito baixo;
- **Escore de Agatston de 1 – 99:** Ligeiramente aumentado;
- **Escore de Agatston de 100 – 299:** Moderadamente aumentado;
- **Escore de Agatston > 300:** Moderadamente a gravemente aumentado;

5.7 Diagnóstico de síndrome metabólica

A síndrome metabólica foi definida pela presença de três ou mais dos seguintes fatores, conforme estabelece o NCEP-ATP3 (*Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel 3*).

A AHA (*American Heart Association*) considera esses critérios em um de seus posicionamentos sobre síndrome metabólica (Grundy et al., 2005):

- Glicemia de jejum >100 mg/dL ou tratamento medicamentoso para glicemia alterada;
- HDL-c < 40 mg/dL em homens, < 50 mg/dL em mulheres ou *tratamento medicamentoso para HDL-c baixo;
- Triglicérides > 150 mg/dL ou *tratamento medicamentoso para triglicerídeos elevados;
- Circunferência da cintura > 102 cm (homens) ou > 88 cm (mulheres);
- Pressão arterial > 130/85 mmHg ou tratamento medicamentoso para hipertensão;

*Niacina e fibratos são os medicamentos mais comumente utilizados para HDL-c baixo e triglicérides elevados, respectivamente.

5.8 Avaliação antropométrica

Para a avaliação antropométrica foram utilizados os parâmetros de índice de massa corporal (IMC), circunferência da cintura (CC) e estimativa da porcentagem de gordura corporal. As medidas antropométricas seguiram a padronização do Manual de Referência Antropométrica proposto por Lohman, Roche e Martorell (1988).

5.8.1 Índice de massa corporal (IMC): indicador do estado nutricional que estabelece a relação entre o peso do indivíduo com sua estatura ao quadrado (WHO, 1995). Expresso pela seguinte equação:

$$\mathbf{IMC = peso/estatura^2}$$

O peso (em quilogramas) e a estatura (em metros) foram obtidos usando balança antropométrica (Welmy®), com o indivíduo descalço e vestindo roupas leves, seguindo metodologia estabelecida (Lohman; Roche; Martorell, 1988).

5.8.2 Circunferência cintura (CC): utilizada para identificar casos de obesidade central/visceral que configura risco para doenças cardiovasculares em homens e mulheres (WHO, 1998).

A medida da CC foi registrada no ponto médio entre a crista ilíaca ântero-superior e o último arco costal, utilizando fita métrica inelástica (Avanutri®), de acordo com protocolo previamente definido (Lohman; Roche; Martorell, 1988).

5.8.3 Gordura corporal (%): a estimativa do percentual de gordura corporal foi obtida por meio da soma das quatro dobras cutâneas: tricipital, bicipital, supra-ilíaca e subescapular (Durnin; Womersley, 1974).

O valor total ou mais próximo foi verificado na primeira coluna da tabela de Durnin e Womersley (1974). Com base nesse valor, foi possível identificar, nas colunas referentes à idade e ao sexo, a porcentagem de gordura corporal estimada – consulte o ANEXO C.

A classificação da porcentagem de gordura seguiu os pontos de corte definidos por Jackson e Pollock, (1985).

5.9 Determinação das apolipoproteínas A-I e B, e Lp(a)

O ensaio para a determinação plasmática das apos A-I e B e da Lp(a) foi realizado por método turbidimétrico por meio de kit disponível comercialmente Siemens Healthcare (Erlangen, Alemanha).

5.10 Determinação do perfil lipídico

Quadro 1. Valores referenciais do perfil lipídico para adultos maiores de 20 anos

Colesterol Total: < 200 mg/dL – *Desejável;* 200 – 239 mg/dL – *Limítrofe*; ≥ 240 mg/dL – *Alto*
LDL-c: < 100 mg/dL – *Ótimo*; 100 – 129 mg/dL – *Desejável*; 130 – 159 mg/dL – *Limítrofe*; 160 – 189 mg/dL – *Alto*; ≥ 190 mg/dL – *Muito Alto*
*__HDL-c:__ > 40 mg/dL - *Desejável*
Triglicérides: < 150 mg/dL – *Desejável*; 150 – 200 mg/dL – *Limítrofe*; 200 – 499 mg/dL – *Alto*; ≥ 500 mg/dL – *Muito Alto*
Não HDL-c: < 130 mg/dL – *Ótimo*; 130 – 159 mg/dL – *Desejável*; 160 – 189 mg/dL – *Alto*; ≥190 mg/dL – *Muito Alto*

Fonte: Xavier *et al.*, 2013; *Faludi *et al.*, 2017.

A determinação de colesterol total (CT) e de triglicérides foi conduzida em amostras de soro por meio do método colorimétrico enzimático utilizando o kit comercial Flex® reagente Cartridge, com o auxílio do equipamento Dimension RXL, Siemens Healthcare (Erlangen, Alemanha).

A quantificação do HDL-c foi realizada no soro por meio do método colorimétrico enzimático homogêneo direto, empregando o kit comercial Flex® reagente Cartridge. A absorbância da amostra foi obtida em um comprimento de onda específico, e os cálculos e

resultados foram gerados automaticamente pelo equipamento Dimension RXL, Siemens Healthcare (Erlangen, Alemanha).

O LDL-c foi estimado pela fórmula de *Friedewald* (Friedewald; Levy; Fredrickson, 1972), enquanto o não HDL-c foi obtido subtraindo o HDL-c do CT, de acordo com as equações a seguir:

LDL-c = CT – [HDL-c + (Triglicérides ÷ 5)]

Não HDL-c = CT – HDL-c

Em situação de hipertrigliceridemia a determinação do LDL-c foi obtida de forma direta por método colorimétrico enzimático homogêneo. Isso devido a imprecisão da fórmula que diminui de forma gradual quando as concentrações de triglicérides se situam entre 200 a 400 mg/dL e se tornar praticamente inválida quando alcançam 400 mg/dL (Nauck; Warnick; Rifai, 2002).

O padrão de referência utilizado para o perfil lipídico está especificado na V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (Xavier et al., 2013). No que diz respeito ao HDL-c, foram consideradas as orientações mais recentes da Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (Faludi et al., 2017).

5.11 Atividade da paraoxonase 1 (PON1)

A avaliação da atividade da enzima antioxidante PON1, associada a HDL, foi determinada pela adição de 500μL de tampão Tris-HCL 0,1M pH 8,05 contendo 2mmol/L de $CaCl_2$ e 1,1mmol/L de paraoxon (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) a 25μL de soro de cada paciente. Posteriormente, 200 μL da mistura (tampão + soro) foram adicionados em duplicata a uma placa de 96 poços.

Seis leituras foram realizadas com intervalos de 1 minuto cada, utilizando o leitor de microplacas (Multilabel Reader Victor TMX3, Perkin Elmer, Waltham, EUA), 405nm, 37°C. Para o calculo da atividade enzimática, a média das variações das absorbâncias foi multiplicada pelo fator de 1163,43 nMol/mL, conforme descrito por Senti et al. (2003).

5.12 Concentração da LCAT e da CETP

A concentração da LCAT e da CETP foram determinadas por meio de imunoensaio (Cloud-Clone Corp, Katy, EUA).

5.13 Diâmetro da HDL

Em amostra de plasma fresco, a HDL foi separada das lipoproteínas que contém apo B por meio da adição de polietilenoglicol (PEG) 8000. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas vigorosamente durante 30 segundos e posteriormente centrifugadas a 5.000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante que continha HDL foi misturado com uma solução salina de 10mmol/L e, posteriormente, filtrado em um filtro com diâmetro de poro de 0,22µm.

O diâmetro da HDL foi obtido por espalhamento dinâmico de luz (Zetasizer Nano-ZS, Malvern, Reino Unido), em ângulo de 90° e 658 nm, e expresso pelo resultado médio em 10 corridas de 1 minuto cada (Lima; Maranhão, 2004).

5.14 Lipoprint test

O colesterol em cada subfração da HDL foi quantificado utilizando o sistema Lipoprint (Lipoprint® System; Quantimetrix, Redondo Beach, CA). Para este procedimento, 25 µl do plasma de cada indivíduo foram adicionados a tubos contendo gel de poliacrilamida a 3%, juntamente com 300 µl de um gel catalisador contendo corante lipofílico. Após a fotopolimerização à temperatura ambiente por 30 minutos, as amostras foram colocadas em câmaras apropriadas, contendo 1000 ml de solução tampão eletrolítico na câmara inferior e 200 ml na câmara superior, sendo submetidas à eletroforese por 1 hora (3 mA/tubo).

Após um período de repouso de 30 minutos, os géis foram escaneados e analisados utilizando o software Lipoprint®. A Figura 4 mostra um eletroferograma em gel das subfrações de HDL utilizando o Quantimetrix Lipoprint® System.

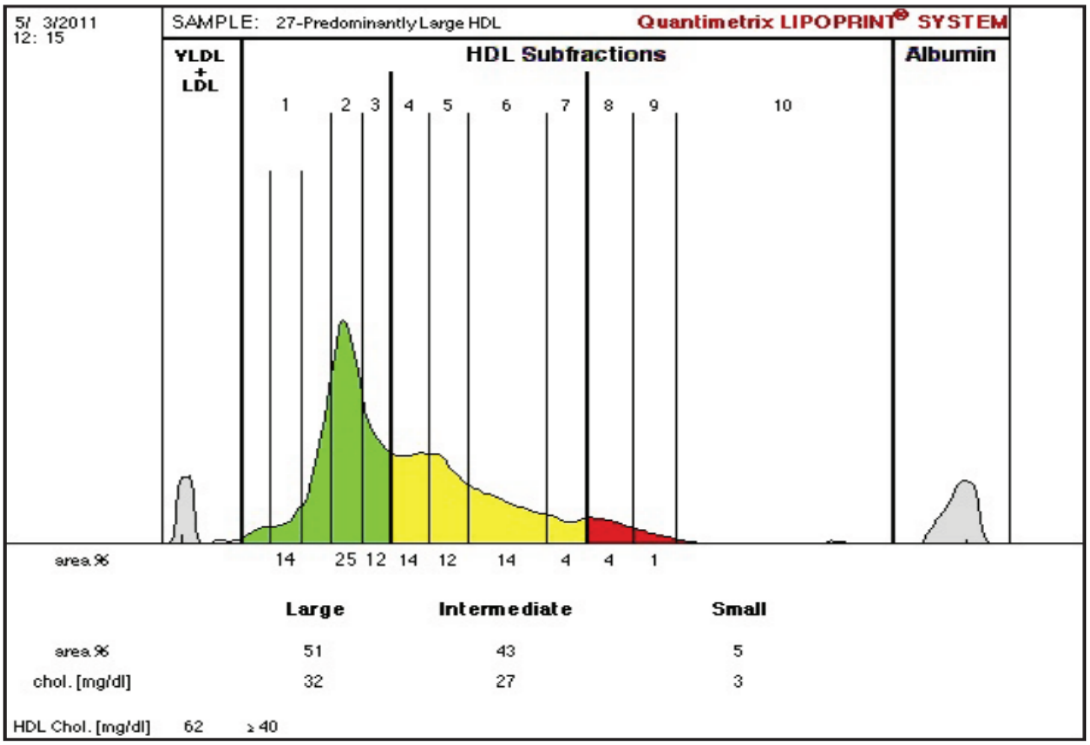
O Lipoprint® System tem a capacidade de separar as HDL em até dez subfrações, e agrupá-las em:

- **HDL grande:** bandas 1 – 3;
- **HDL intermediária:** bandas 4 – 7;

- **HDL pequena:** bandas 8 – 10;

Os resultados foram expressos em mg/dL e porcentagens, sendo os valores para cada amostra baseados na concentração de HDL-c de cada paciente.

Figura 3. Perfil da HDL apresentando principalmente subfrações de tamanho grande



Fonte: Típico eletroferograma em gel das subfrações de HDL utilizando o Quantimetrix Lipoprint® System.

5.15 Capacidade antioxidante da HDL

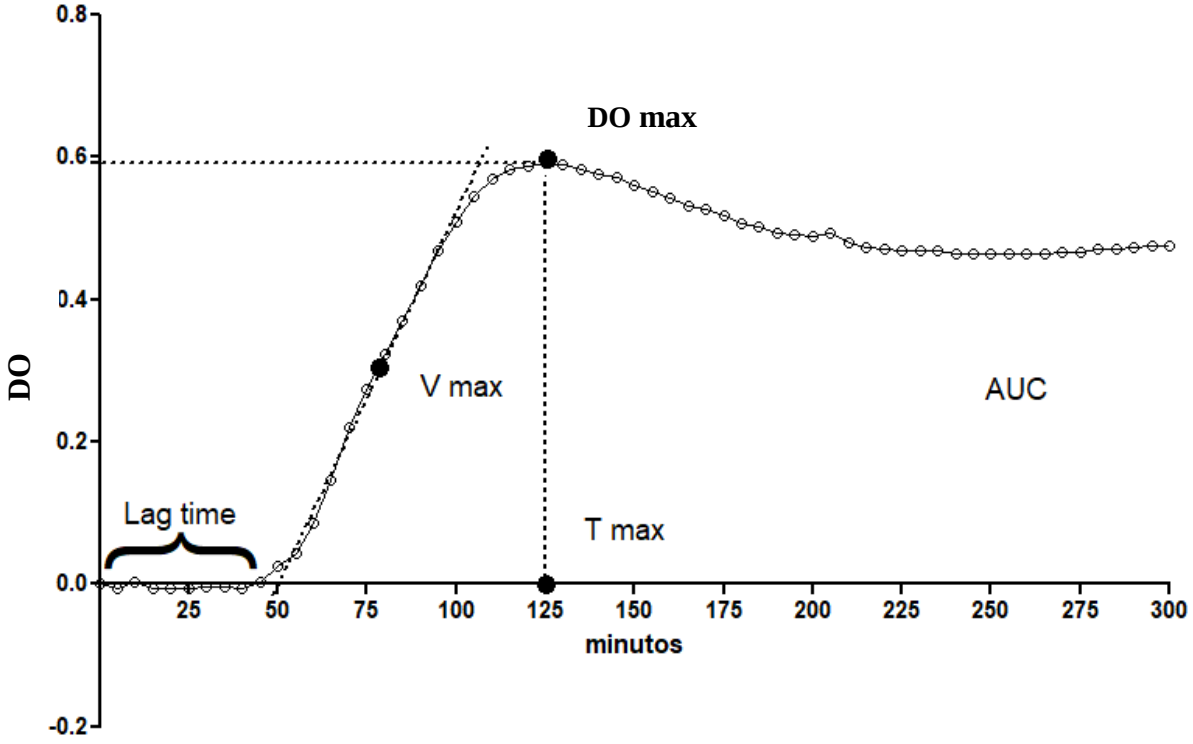
A capacidade antioxidante da HDL foi avaliada pelo teste *in vitro* por meio da oxidação da LDL induzida por sulfato de cobre na presença ou ausência da HDL (Esterbauer et al., 1989).

Amostras de sangue foram coletadas de voluntários saudáveis, e o soro correspondente foi isolado por meio de centrifugação a 4.000 rpm por 10 minutos a 4°C (Eppendorf Centrifuge 5810 R, Hamburgo, Alemanha). O pool de soro foi então submetido a ultracentrifugação utilizando o rotor 90Ti a 56.000 rpm, durante 7 horas, a 4°C (Beckman OptimaTM XL-100K, Brea, EUA). O soro obtido passou por uma segunda ultracentrifugação

a 56.000 rpm, durante 6 horas, a 4°C, com o propósito de obter a fração desejada, a LDL. Após essa etapa, a LDL coletada foi dialisada em tampão TRIS-HCL 20 mM, pH 7,4, ao longo de 4 horas, com trocas a cada 1 hora, mantendo-se protegida da luz. A HDL de cada paciente foi separada do plasma por meio de precipitação com ácido fosfotúngstico a 1,5 mmol/L e MgCl2 a 54 mmol/L.

A determinação da concentração de proteínas nas amostras de LDL e HDL foi realizada pelo método de Bradford. Em seguida, 83 µg/mL de LDL foram incubados com 200 µg/mL de HDL na presença de 30 µM de sulfato de cobre. A geração de dienos conjugados, resultante da oxidação lipídica, foi monitorada pela leitura da absorbância a 234 nanômetros em espectrofotômetro, ao longo de 5 horas a 37°C. As leituras foram realizadas em intervalos de 5 minutos.

Figura 4. Gráfico obtido na análise da capacidade antioxidante da HDL



Legenda: Lag time: tempo para o início da produção de dienos conjugados; Vmax: taxa de velocidade máxima de peroxidação lipídica; Tmax: tempo para produção máxima de dienos conjugados; DOmax: pico de produção máxima de dienos conjugados expresso em DO (densidade óptica); AUC: área sob a curva.
Fonte: Adaptado de Esterbauer et al. (1989).

Dessa forma, conforme ilustra a Figura 5, os dados da taxa máxima de peroxidação lipídica (Vmax) foram coletados, determinados a partir do declive da curva de absorbância durante a fase de propagação, ou seja, Δ absorbância/Δ tempo. Além disso, foram registrados os dados referentes à produção máxima de dienos conjugados em densidade óptica (DOmax), o tempo necessário para atingir a produção máxima de dienos conjugados (Tmax) em minutos e, por fim, a área sob a curva (AUC).

5.16 Transferência de lípides de uma nanopartícula lipídica para a HDL

O ensaio *in vitro* de transferência de lípides foi realizado utilizando uma nanopartícula lipídica artificial preparada segundo a técnica descrita por Maranhão et al., (1993). Em um frasco foram pipetados 40mg de fosfatidilcolina, 20mg de oleato de colesterol, 1mg de trioleína e 0,5mg de colesterol. Os isótopos foram incorporados no experimento da seguinte forma: trítio (^{3}H) foi adicionado para marcar o CL (^{3}H-colesterol), enquanto o carbono-14 (^{14}C) foi empregado para marcar o CE (^{14}C-colesterol esterificado). Após a adição de 10mL de tampão Tris-HCl 0,01M, pH 8,0, a mistura de lípides foi emulsificada por irradiação ultrassônica, utilizando-se equipamento Branson, modelo 450A (Arruda Ultra-Som, São Paulo, Brasil) potência 125 watts, durante 3 horas, sob atmosfera de nitrogênio, com temperatura entre 51 e 55ºC.

A solução lipídica foi purificada em duas etapas de ultracentrifugação (Optima^{TM} XL-100K Ultracentrifuge, rotor SW–41, Indianápolis, Beckman), com ajuste da densidade com brometo de potássio (KBr). Após a segunda centrifugação, a nanopartícula lipídica foi recuperada no topo do tubo por aspiração. O excesso de KBr foi removido por diálise, em tampão Tris HCl. Finalmente, a nanopartícula foi esterilizada por filtração em membrana Millipore de 0,22 μm sob fluxo laminar e armazenada a 4ºC para uso em até 15 dias.

O ensaio de transferência de lípides para HDL foi realizado segundo descrito por Lo Prete *et al.,* (2009). Uma alíquota de 200μL de plasma dos participantes foi incubada com 50 μL da nanopartícula marcada com os lípides radioativos (^{3}H-colesterol e ^{14}C-colesterol esterificado), a 37ºC, sob agitação, durante 1 hora. Então, foram adicionados 250 μL de reagente precipitante (0,2% dextran/0,3 mol/L $MgCl_2$) seguida de agitação por 30 segundos e centrifugação por 10 minutos a 3.000 rpm. A radioatividade do sobrenadante, juntamente com a HDL, foi quantificada em um contador beta (Hidex Oy, Turku, Finlândia), representando a transferência do CL e CE da nanopartícula para a HDL.

5.17 Cálculo amostral

O dimensionamento da amostra foi baseado na variabilidade percentual da transferência de CL para HDL, utilizando como referência dois estudos realizados anteriormente no Laboratório de Metabolismo e Lipídeos do InCor. O primeiro estudo, conduzido por Maranhão et al., (2012), comparou pacientes com DAC precoce (< 50 anos) com controles saudáveis. O segundo, conduzido por Martinez et al., (2013), comparou pacientes com hipercolesterolemia familiar heterozigótica com indivíduos normolipidêmicos.

Com o intuito de alcançar um poder de teste de 90% e um grau de significância de $p < 0,05$, o número de participantes por grupo foi estabelecido em 22.

Parâmetros utilizados:

- Médias (transferência de CL para HDL): 3,8 e 5,59
- Desvio padrão (σ) – média ponderada: 1,8
- Poder do teste ($1 - \beta$): 0,90
- Erro alfa (α): 0,05
- Número de participantes por grupo: 22

5.18 Análise estatística

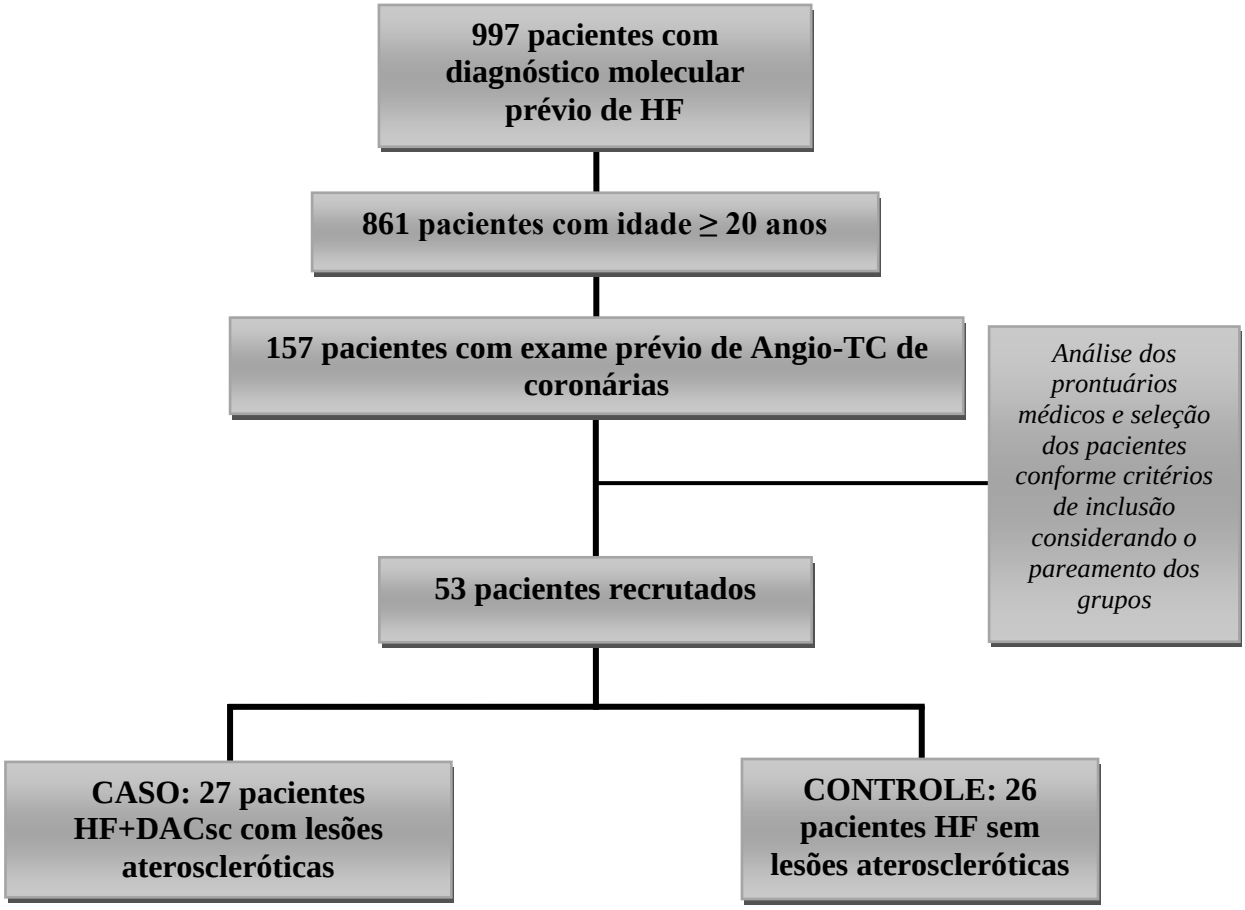
A análise da distribuição dos dados foi realizada por meio do teste de *Shapiro-Wilk* (Shapiro; Wilk, 1965; Vetter, 2017). Quando os dados exibiram distribuição gaussiana, foi aplicado o teste *t de Student*. Nos casos em que a distribuição não foi gaussiana, optou-se pelo teste de *Mann-Whitney*. O teste Qui-quadrado foi empregado para avaliar a relação entre variáveis categóricas. Dados paramétricos foram expressos como média ± desvio padrão (DP), e dados não paramétricos como mediana e intervalo interquartil (IQR).

A fim de identificar os fatores de risco mais fortemente associados à DAC subclínica, foi conduzida uma análise de dados utilizando o modelo de regressão logística para estudo de caso-controle. Posteriormente, procedeu-se à correlação dos dados por meio dos testes de *Spearman* e *Pearson*, de acordo com a distribuição dos mesmos.

Em todas as análises, os parâmetros foram considerados estatisticamente diferentes quando $p < 0,05$. Os dados foram analisados no *software* estatístico R, versão 4.3.1, enquanto as análises gráficas foram realizadas no *software GraphPad Prism*, versão 5.00.

6 RESULTADOS

Figura 5. Fluxograma de inclusão dos pacientes no estudo



Legenda: HF: hipercolesterolemia familiar; HF+DACsc: hipercolesterolemia familiar e DAC subclínica; DAC: doença arterial coronária.

Conforme indica o fluxograma, dos 997 pacientes com diagnóstico molecular prévio de hipercolesterolemia familiar heterozigótica registrados na Unidade de Lípides do InCor (HCFMUSP), 861 apresentavam idade igual ou superior a vinte anos. Nessa amostra, foram identificados 157 indivíduos com exame prévio de Angio-TC de coronárias. Após análise criteriosa dos prontuários desses prontuários, 53 pacientes elegíveis foram convidados para participar do estudo. Destes, 27 exibiam lesões ateroscleróticas nas artérias coronárias, ao passo que os outros 26 restantes não apresentavam tais lesões (Figura 5).

A Tabela 1 apresenta de forma sistemática os dados demográficos, incluindo idade e sexo, juntamente com informações referentes à história clínica desses pacientes, além do registro do uso de medicamentos.

Tabela 1. Dados demográficos, história clínica e uso de medicamentos de pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica

Variáveis	HF+DACsc (n=27)	HF (n=26)	*p*
Sexo, M/F, n (%)	7/20 (26/74)	7/19 (27/73)	0,999
Idade (anos)	51,1±8,3	47,3±8,2	0,105
Tempo de diagnóstico molecular (anos)	4,7±2,7	4,8±2,1	0,790
Rastreamento genético			0,745
Caso índice, n (%)	7 (26)	5 (19)	
Caso familiar, n (%)	20 (74)	21 (81)	
Variantes			0,491
LDLR, n (%)	27 (100)	25 (96)	
APOB, n (%)	0	1 (4)	
[a]Sinais patognomônicos da HF, n (%)			**0,014**
Xantomas tendinosos	14 (52)	5 (19)	
Arco corneano	1 (4)	4 (15)	
Xantomas tendinosos e arco corneano	5 (19)	3 (12)	
Síndrome metabólica	14 (52)	7 (27)	0,093
Diabetes, n (%)	2 (7)	0	0,491
Glicemia de jejum (mg/dL)	97 (95:107)	95 (93:100)	0,170
HbA1c (%)	5,6 (5,4:5,8)	5,4 (5,2:5,7)	0,180
HAS, n (%)	11 (41)	7 (27)	0,387
PAS (mmHg)	130 (120:141)	120 (110:127,5)	**0,017**
PAD (mmHg)	80 (70:90)	80 (72,5:80)	0,370
Tratamento hipolipemiante prévio, n (%)	12 (44)	15 (58)	0,414
Uso de [b]estatina de alta potência, n (%)	27 (100)	26 (100)	0,999
[c]Estatina associada com ezetimibe	17 (63)	11 (42)	0,173
[d]História familiar de DAC precoce, n (%)	19 (70)	10 (38)	**0,028**
Uso de [e]antibiabético oral, n (%)	4 (15)	3 (12)	0,999
Uso de [f]anti-hipertensivos orais, n (%)	11 (41)	7 (27)	0,387
Ex-tabagista, n (%)	7 (26)	4 (15)	0,501
PCR-us (mg/L)	0,68 (0,51:2,88)	1,06 (0,36:2,46)	0,999

Dados expressos em média ± desvio padrão (DP), número absoluto (porcentagem) ou mediana (IQR). M: masculino; F: feminino; *LDLR*: gene do receptor de LDL; *APOB*: gene da apo B; HF: hipercolesterolemia familiar; HbA1c: hemoglobina glicada; HAS: hipertensão arterial sistêmica; PAS: pressão arterial sistêmica; PAD: pressão arterial diastólica; PCR-us: proteína C reativa ultrassensível. [a]Sinais clínicos característicos da hipercolesterolemia familiar; [b]Atorvastatina ou rosuvastatina; [c]Dose máxima de estatina de alta potência; [d]Refere-se a familiar de primeiro grau; [e]biguanidas (metformina) e sulfoniluréias (gliclazida); [f]inibidores da IECA (enalapril, losartana), bloqueador dos canais de cálcio (amlodipina), betabloqueador (atenolol) e diuréticos (hidroclorotiazida, clortalidona).

O tempo médio relativo de diagnóstico molecular de hipercolesterolemia familiar não foi diferente entre casos e controles. Quanto ao rastreamento genético, houve predominância de "caso familiar" na amostra geral. No grupo HF+DACsc, todos os pacientes exibiram

variantes no gene *LDLR*; de maneira semelhante, no grupo HF, 96% apresentaram cópias de variantes consideradas "patogênicas" ou "provavelmente patogênicas" nesse gene.

Os xantomas tendinosos foram observados em 52% dos pacientes no grupo HF+DACsc e em 19% no grupo HF. No geral, a presença de sinais patognomônicos da hipercolesterolemia familiar mais prevalente no grupo HF+DACsc (p=0,014).

Não foram identificadas diferenças entre casos e controles nos dados relacionados à avaliação do metabolismo de carboidratos, incluindo diabetes, glicemia de jejum e hemoglobina glicada (HbA1c) e síndrome metabólica. Além disso, o uso de antidiabéticos orais também foi semelhante entre eles.

Apesar da igualdade na ocorrência de hipertensão arterial sistêmica (HAS) e no uso de anti-hipertensivos orais, o grupo HF+DACsc apresentou pressão arterial sistólica (PAS) mais elevada em comparação com o grupo HF (p=0,017). Com relação a pressão arterial diastólica (PAD) não houve diferença entre casos e controles.

Tanto os pacientes do grupo HF+DACsc quanto os do grupo HF apresentaram tempo semelhante de exposição prévia à terapias hipolipemiantes. Durante a etapa de recrutamento, todos os participantes do estudo recebiam tratamento com estatinas de alta potência como parte da estratégia terapêutica para controle do LDL-c. Uma parcela significativa desses indivíduos, recebiam dose máxima de estatina de alta potência juntamente com ezetimibe, totalizando 63% no grupo HF+DACsc e 42% no grupo HF, entretanto sem diferença entre os grupos.

No grupo HF+DACsc, foi observada prevalência (70%) de história familiar de DAC precoce em parentes de primeiro grau em comparação com o grupo HF (p=0,028).

Neste estudo, não foi identificada diferença na PCR-us entre os grupos HF+DACsc e HF, assim como não foram encontradas diferenças em relação à história pregressa de tabagismo.

A Tabela 2 exibe dados de grau da calcificação das artérias coronárias dos pacientes. O grupo HF+DACsc apresentou diferenças em relação ao grupo HF (p=0,001) em variáveis como escore de Agatston, valores absolutos de Agatston e valores de percentil ajustados por idade, sexo e etnia. No entanto, em média, a “idade” do exame de Angio-TC de coronárias foi

semelhante entre os pacientes do grupo HF+DACsc e HF (p=0,663). Esses parâmetros específicos foram fundamentais para a concepção do estudo.

Tabela 2. Grau de calcificação coronária de pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica

Variáveis	HF+DACsc (n=27)	HF (n=26)	*p*
Exame prévio de Angio-TC (anos)	2,8±2,1	2,9±1,8	0,663
Escore de Agatston	24 (7:61)	0	**<0,001**
Valores absolutos (Score de Agatston)			**<0,001**
0	[a]3 (11)	26 (100)	
1 – 99	20 (74)	0	
100 – 299	4 (15)	0	
> 300	0	0	
[b]Valores ajustados para idade, sexo e etnia			**<0,001**
< P75, n (%)	8 (30)	0	
≥ P75, n (%)	17 (63)	0	
Grau de Obstrução das coronárias			0,111
> 50%	4 (15)	0	

Dados expressos em média ± desvio padrão (DP), número absoluto (porcentagem) ou mediana (IQR). Angio-TC: angiotomografia de coronárias; [a]Cálcio zero, porém com presença de placas não calcificadas; [b]Percentil baseado no estudo MESA (*Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis*) - McClelland et al. (2006).

A Tabela 3 descreve o perfil lipídico basal e sob terapia dos pacientes, incluindo a concentração de Lp(a). Conforme esperado, durante a suspensão de medicamentos hipolipemiantes, tanto o grupo HF+DACsc quanto grupo HF apresentou aumento no CT, LDL-c, não HDL-c e apo B. No entanto, não foram observadas diferenças entre os grupos.

Sob terapia hipolipemiante, os grupos HF+DACsc e HF mostraram redução semelhante no CT, LDL-c, não HDL-c e apo B.

O HDL-c e apo A-I não diferiu entre casos e controles no perfil basal. Da mesma forma, sob terapia, o HDL-c permaneceu igual entre os grupos HF+DACsc e HF. A relação apo B/apo A-I se apresentou elevada durante a suspensão da terapia hipolipemiante em ambos grupos, porém sem diferenças entre casos e controles.

No perfil lipídico basal, os triglicérides não foram diferentes entre os grupos, embora as medianas se apresentassem distintas. Sob terapia hipolipemiante, os triglicérides

mostraram-se semelhantes entre os grupos de estudo. No que diz respeito à Lp(a), sob terapia, os valores medianos não diferiram entre os grupos HF+DACsc e HF.

Tabela 3. Perfil lipídico basal e sob terapia hipolipemiante, e Lp(a) de pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica

Variáveis	HF+DACsc (n=27)	HF (n=26)	*p*
[a]Colesterol (mg/dL) $_{basal}$			
Total	366±69	333±70	0,097
LDL	280±67	257±64	0,223
HDL	49±13	48±10	0,847
Não-HDL	317±69	285±71	0,110
[a]Triglicérides (mg/dL) $_{basal}$	176 (109:228)	103 (86:169)	0,059
[a]Apo (g/L) $_{basal}$			
A-I	1,4±0,2	1,5±0,3	0,463
B	1,9±0,4	1,8±0,4	0,236
[a]Relação Apo B/Apo A-I $_{basal}$	1,4±0,4	1,3±0,4	0,182
[b]Colesterol (mg/dL)			
Total	216±48	220±65	0,802
LDL	141±45	160±62	0,203
HDL	53±14	49±10	0,266
Não-HDL	171±56	178±68	0,660
[b]Triglicérides (mg/dL)	95 (69:145)	72 (57:114)	0,103
[b]Lp(a) (mg/dL)	25,2 (7,8:72,8)	28,1 (16,7:47,2)	0,991

Dados expressos em média ± desvio padrão (DP) ou mediana (IQR). LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade; Apo: apolipoproteína; Lp(a): lipoproteína(a); [a]Sob suspensão de terapia hipolipemiante por 30 dias; [b]Dado prévio, coletado do prontuário do paciente;

Na Tabela 4 estão expostos os dados relacionados a avaliação do estado nutricional dos pacientes. Os grupos não mostraram diferenças quanto ao IMC, circunferência da cintura (CC) e porcentagem de gordura corporal. Considerando os critérios de classificação adotados para esses parâmetros, os grupos HF+DACsc e HF também apresentaram-se semelhantes.

O diâmetro e perfil de subfrações da HDL estão expostos na Tabela 5. Destaca-se que que não foram encontradas diferenças entre casos e controles em relação ao diâmetro ou às diferentes subfrações da HDL, que incluem partículas grandes, intermediárias e pequenas ao comparar os grupos HF+DACsc e HF.

Tabela 4. Avaliação do estado nutricional de pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica

Variáveis	HF+DACsc (n=27)	HF (n=26)	*p*
IMC (Kg/m^2)	28,5±5,2	26,8±5,7	0,272
[a]Classificação do IMC			0,720
Baixo peso	0	1 (4)	
Eutrofia	8 (30)	11 (42)	
Sobrepeso	8 (30)	7 (27)	
Obesidade Grau I	7 (26)	4 (15)	
Obesidade Grau II	4 (14)	3 (12)	
Obesidade Grau III	0	0	
CC (cm)			0,312
Homens	92,1±6,4	88,4±4,1	
Mulheres	87,5±2,6	83,9±3,0	
[b]Classificação da CC			0,287
Baixo risco	11 (41)	11 (42)	
Risco aumentado	5 (18)	9 (35)	
Risco muito aumentado	11 (41)	6 (23)	
Gordura corporal (%)			0,703
Homens	20,2±2,4	20,6±2,4	
Mulheres	28,3±1,1	29,3±1,5	
[c]Classificação da gordura corporal (%)			0,971
Magro	2 (7)	1 (4)	
Bom	5 (19)	4 (15)	
Dentro da média	12 (44)	11 (42)	
Regular	3 (11)	3 (12)	
Alto percentual de gordura	5 (19)	7 (27)	

Dados expressos em média ± desvio padrão (DP) ou número absoluto (porcentagem). IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência cintura; [a]WHO (1995); [b]WHO (1998); [c]Jackson e Pollock, (1985).

A Tabela 6 apresenta as características funcionais e metabólicas da HDL. A concentração de CETP no plasma foi maior no grupo HF+DACsc em comparação com o grupo HF (*p*=0,008); no entanto, a concentração de LCAT permaneceu igual entre os grupos de estudo. Em relação à taxa de transferência de CL e CE para a HDL, não houve diferença entre cacos e controles.

Tabela 5. Diâmetro e subfrações da HDL de pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica

Variáveis	HF+DACsc (n=27)	HF (n=26)	*p*
Diâmetro da HDL (nm)	8,86 (8,52:9,82)	8,78 (8,32:10,42)	0,676
Subfrações da HDL			
HDL grande (mg/dL)	11±7	13±7	0,521
HDL intermediária (mg/dL)	23±8	22±5	0,425
HDL pequena (mg/dL)	14±4	14±6	0,245
HDL grande (%)	22±10	25±11	0,225
HDL intermediária (%)	47±7	46±6	0,480
HDL pequena (%)	30±10	28±10	0,230

Dados expressos em média ± desvio padrão (DP) ou mediana (IQR). HDL: lipoproteína de alta densidade.

Tabela 6. Características funcionais e metabólicas da HDL de pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica

Variáveis	HF+DACsc (n=27)	HF (n=26)	*p*
CETP (µg/mL)	0,300 (0,268:0,618)	0,242 (0,198:0,295)	***0,008***
LCAT (µg/mL)	1,81±0,09	1,81±0,10	0,906
Transferência de colesterol para HDL (%)			
CL	5,14±0,67	4,91±0,82	0,126
CE	2,92±0,61	2,74±0,76	0,367

Dados expressos em média ± desvio padrão (DP) ou mediana (IQR). CETP: proteína de transferência de colesterol esterificado; LCAT: lecitina-colesterol aciltransferase; HDL: lipoproteína de alta densidade; CL: colesterol livre; CE: colesterol esterificado.

A Tabela 7 apresenta os parâmetros relativos à capacidade antioxidante da HDL e à atividade da PON1. Não foram identificadas diferenças em nenhum dos parâmetros mensurados relacionados à capacidade antioxidante da HDL, como Lag time, Vmax, Tmax, ODmax e AUC, entre o grupo HF+DACsc e o grupo HF. De maneira semelhante, a atividade da PON1 não foi diferente entre casos e controles.

A Figura 6 ilustra o modelo gráfico de regressão logística de variáveis potencialmente relacionadas à DAC subclínica. Na análise univariada, que abrangeu a história clínica dos pacientes, o perfil metabólico, o perfil lipídico, bem como os aspectos funcionais e metabólicos da HDL, foram identificadas três associações relevantes. Para obter as OR de todas as variáveis testadas, consulte o ANEXO D.

Tabela 7. Capacidade antioxidante da HDL e atividade da paraoxonase 1 (PON1) de pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica

Variáveis	HF+DACsc (n=27)	HF (n=26)	*p*
Capacidade antioxidante da HDL			
Lag time (min)	53,4 (50,7: 59,0)	53,0 (51,5: 54,6)	0,901
Vmax (mili/unid/min)	2,7 (2,3:3,2)	2,8 (2,4:3,1)	0,688
Tmax (min)	117,5 (113,8:130,0)	118,8 (112,5:126,9)	0,447
DOmax	0,57 (0,53:0,60)	0,58 (0,54:0,60)	0,735
AUC	110,0 (102,2:117,0)	113,3 (104,4:115,8)	0,757
Atividade da PON1 (U/L)	52,1 (38,2:89,1)	93,6 (35,4:128,1)	0,199

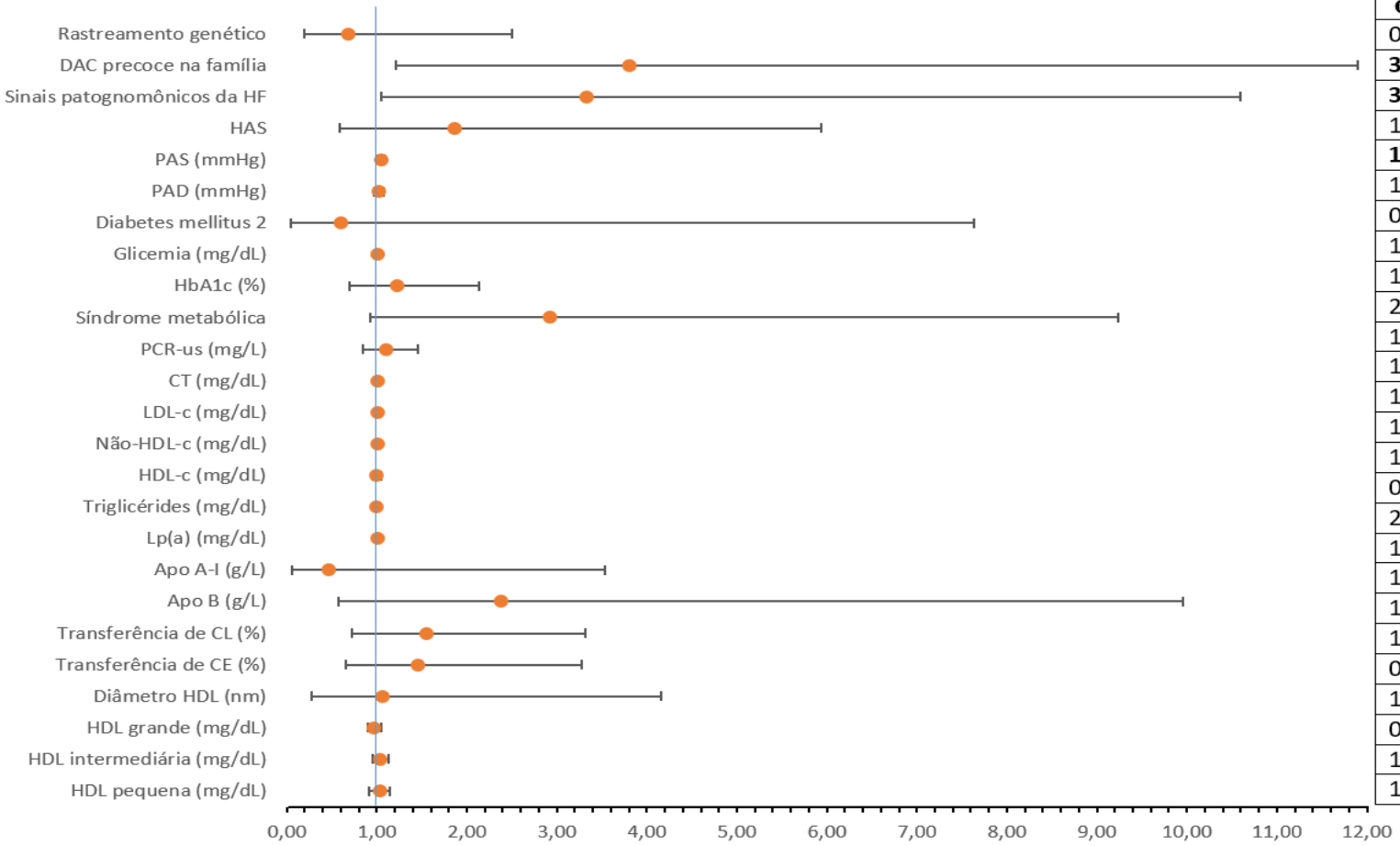
Dados expressos em mediana (IQR). HDL: lipoproteína de alta densidade; Lag time: tempo para o início da produção de dienos conjugados; Vmax: taxa de velocidade máxima de peroxidação lipídica; Tmax: tempo para produção máxima de dienos conjugados; DOmax: pico de produção máxima de dienos conjugados expresso em DO (densidade óptica); AUC: área sob a curva; PON1: paraoxonase 1.

A presença de DAC precoce na família mostrou associação com uma *Odds Rati*o (OR) de 3,80 (IC 95% 1,21 – 11,90; *p*=0,022), evidenciando diferença estatística e indicando que essa relação não é meramente resultado do acaso. Tal associação sugere aumento na probabilidade de desenvolvimento da condição.

Os sinais patognomônicos relacionados à hipercolesterolemia familiar apresentaram OR de 3,33 (IC 95% 1,05 – 10,60; *p*=0,041), indicando que a presença desses sinais está associada a um aumento significativo na probabilidade de ocorrência de DAC subclínica.

A medida da pressão arterial (PA) exibiu associação com a DAC subclínica [OR 1,05 (IC 95% 1,01 – 1,09; *p*=0,021)], sugerindo que um aumento na PAS está correlacionada a maior probabilidade de ocorrência da condição em análise.

Figura 6. Gráfico de associação univariada relacionada à doença arterial coronária (DAC) subclínica em pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica



OR	IC 95%	*p*
0,68	0,19 – 2,50	0,562
3,80	**1,21 – 11,90**	**0,022**
3,33	**1,05 – 10,60**	**0,041**
1,87	0,59 – 5,94	0,291
1,05	**1,01 – 1,09**	**0,021**
1,02	0,97 – 1,08	0,366
0,60	0,05 – 7,63	0,694
1,01	0,99 – 1,03	0,511
1,22	0,70 – 2,14	0,484
2,92	0,93 – 9,23	0,067
1,11	0,85 – 1,46	0,435
1,01	1,00 – 1,02	0,103
1,01	1,00 – 1,01	0,222
1,01	1,00 – 1,02	0,115
1,00	0,96 – 1,05	0,844
0,46	0,06 – 3,54	0,459
2,38	0,57 – 9,95	0,233
1,00	1,00 – 1,01	0,153
1,01	0,99 – 1,03	0,435
1,55	0,72 – 3,31	0,260
1,46	0,65 – 3,28	0,361
0,99	0,98 – 1,00	0,073
1,06	0,27 – 4,16	0,993
0,97	0,90 – 1,05	0,513
1,04	0,95 – 1,13	0,420
1,03	0,92 – 1,15	0,644

Legenda: DAC (doença arterial coronária); HF: hipercolesterolemia familiar; HAS: hipertensão arterial sistêmica; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; HbA1c: hemoglobina glicada; PCR-us: PCR ultrassensível; CT: colesterol total; LDL-c: colesterol da lipoproteína de baixa densidade; HDL-c: colesterol da lipoproteína de alta densidade; Apo: apolipoproteína; Lp(a): lipoproteína(a); CL: colesterol livre; CE: colesterol esterificado; PON1: paraoxonase 1; OR: *Odds Ratio*; IC: intervalo de confiança. Análise univariada com base no modelo de regressão logística para estudo caso-controle. As OR das demais variáveis estão no ANEXO D.

Na Tabela 8, após a análise multivariada, apenas a presença de DAC precoce na família [OR 3,97 (IC 95% 1,06 – 14,80; *p*=0,040)] e sinais patognomônicos [OR 3,65 (IC 95% 1,06 – 12,60; *p*=0,040)], relacionados à hipercolesterolemia familiar, mantiveram-se associados à DAC subclínica, como mostra o modelo 4. Essas duas variáveis surgem como fatores independentes e relevantes relacionados à ocorrência de DAC subclínica em pacientes com hipercolesterolemia familiar heterozigótica.

Tabela 8. Associações multivariadas relacionadas à doença arterial coronária (DAC) subclínica em pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica

Modelos	***OR***	***IC 95%***	***p***
Modelo 1			
DAC precoce na família	3,69	1,06 – 12,90	**0,041**
HAS	1,08	0,29 – 4,01	0,908
Modelo 2			
Sinais patognomônicos da HF	3,4	1,06 – 11,00	**0,040**
HAS	1,95	0,58 – 6,55	0,281
Modelo 3			
DAC precoce na família	4,12	1,23 – 12,80	**0,022**
Sinais patognomônicos da HF	3,65	1,06 – 12,60	**0,040**
Modelo 4			
DAC precoce na família	3,97	1,06 – 14,80	**0,040**
Sinais patognomônicos da HF	3,65	1,06 – 12,60	**0,040**
HAS	1,10	0,28 – 4,32	0,890

Legenda: DAC: doença arterial coronária; HF: hipercolesterolemia familiar; HAS: hipertensão arterial sistêmica; OR: *Odds Ratio*; IC: intervalo de confiança. Análise multivariada com base no modelo de regressão logística para estudo caso-controle

Na Tabela 9, são apresentados os dados de correlação relacionados ao escore de Agatston do grupo HF+DACsc, assim como ao perfil lipídico, parâmetros funcionais e metabólicos da HDL e antropometria de todos os participantes do estudo.

O escore de Agatston se correlacionou positivamente com os triglicérides (r = 0,5543; $p < 0,01$), IMC (r = 0,3747; $p < 0,05$) e CC (r = 0,3393; $p < 0,05$) e negativamente com o HDL-c (r = - 0,6088; $p < 0,001$), apo A-I (r = - 0,3812; $p < 0,05$), e as subfrações grande (r = - 0,7030; $p < 0,001$) e intermediária da HDL (r = - 0,3928; $p < 0,05$).

Os triglicérides exibiram correlação positiva com o CT (r = 0,3658; $p < 0,01$), Não HDL-c (r = 0,4694; $p < 0,001$), apo B (r = 0,5302; $p = 0,001$), subfração pequena da HDL (r = 0,4073; $p < 0,01$), transferência de CL (r = 0,4407; $p < 0,01$) e CE para a HDL (r = 0,5654; $p < 0,01$), CETP (r = 0,2975; $p < 0,05$), IMC (r = 0,5498, $p < 0,001$), CC (r = 0,5018; $p < 0,001$) e PAS (r = 0,2966; $p < 0,05$). Além disso, apresentaram correlação negativa com o HDL-c (r = -0,4862; $p < 0,001$), e as subfrações grande (r = -0,6969; $p < 0,001$) e intermediária da HDL (r = -0,3621; $p < 0,01$).

O HDL-c apresentou correlação positiva com a apo A-I (r = 0,8023; $p < 0,001$), subfrações grande (r = 0,7120; $p < 0,001$) e intermediária da HDL (r = 0,8401; $p < 0,001$), e transferência de CL para a HDL (r = 0,3023; $p < 0,05$). Ao mesmo tempo, mostrou correlação negativa com os triglicérides (r = -0,4862; $p < 0,001$), Lp(a) (r = - 0,3766; $p < 0,05$), IMC (r = - 0,4584; $p < 0,001$), CC (r = -0,4377; $p < 0,01$); PAS (r = - 0,3407; $p < 0,05$) e PAD (r = - 0,2724; $p < 0,05$).

A apo A-I apresentou correlação positiva com o HDL-c (r = 0,8023; $p < 0,001$), subfrações grande (r = 0,3736; $p < 0,01$), intermediária (r = 0,8396; $p < 0,001$) e pequena da HDL (r = 0,3049; $p < 0,05$), transferência de CL (r = 0,6366; $p < 0,001$), e CE para a HDL (r = 0,3811; $p < 0,01$), bem como PCR-us (r = 0,2887; $p < 0,05$), e correlação negativa com Lp(a) (r = - 0,4392; $p < 0,01$).

A subfração grande da HDL apresentou correlação positiva com o HDL-c (r = 0,7120; $p < 0,001$), apo A-I (r = 0,3736; $p < 0,01$) e a subfração intermediária da HDL (r = 0,4468; $p < 0,001$), e correlação negativa com o Não HDL-c (r = - 0,2852; $p < 0,05$), triglicérides (r = - 0,6969; $p < 0,001$), apo B (r = - 0,3594; $p < 0,01$), subfração pequena da HDL (r = - 0,3937; $p < 0,01$), IMC (r = - 0,4223; $p < 0,01$) e CC (r = - 0,3968; $p < 0,01$).

A subfração intermediária da HDL apresentou correlação positiva com o HDL-c (r = 0,8401; $p < 0,001$), apo A-I (r = 0,8396; $p < 0,001$) e a subfração grande da HDL (r = 0,4468; $p < 0,001$), bem como com a transferência de CL para a HDL (r = 0,4108; $p < 0,01$). Negativamente, se correlacionou com os triglicérides (r = -0,3621; $p < 0,01$), Lp(a) (r = - 0,3944; $p < 0,01$), IMC (r = - 0,3049; $p < 0,05$) e CC (r = - 0,3714; $p < 0,01$).

A subfração pequena da HDL apresentou correlação positiva com os triglicérides (r = 0,4073; $p < 0,01$), apo A-I (r = 0,3049; $p < 0,05$), transferência de CL (r = 0,4992; $p < 0,001$),

e CE para a HDL (r = 0,4357; $p < 0,01$), e LCAT (r = 0,3562; $p < 0,01$). Houve correlação negativa com a subfração grande da HDL (r = - 0,3937; $p < 0,01$).

A transferência de CL para a HDL se correlacionou positivamente com o CT (r = 0,3205; $p < 0,05$), HDL-c (r = 0,3023; $p < 0,05$), triglicérides (r = 0,4407; $p < 0,001$), apo A-I (r = 0,6366; $p < 0,001$), subfrações intermediária (r = 0,4108; $p < 0,01$), e pequena da HDL (r = 0,4992; $p < 0,001$), transferência de CE para a HDL (r = 0,8120; $p < 0,001$) e IMC (r = 0,2753; $p < 0,05$).

A transferência de CE para a HDL apresentou correlação positiva com o CT (r = 0,6451; $p < 0,001$), LDL-c (r = 0,4845; $p < 0,001$), Não HDL-c (r = 0,6227; $p < 0,001$), triglicérides (r = 0,5654; $p < 0,001$), apo A-I (r = 0,3811; $p < 0,01$), apo B (r = 0,6250; $p < 0,001$), subfração pequena da HDL (r = 0,4357; $p < 0,001$) e transferência de CL para a HDL (r = 0,8120; $p < 0,001$).

A atividade da PON1 se correlacionou positivamente com a LCAT (r = 0,2805; $p < 0,05$) e negativamente com a CETP (r = - 3929; $p < 0,01$) e CC (r = - 0,2697; $p < 0,05$).

A LCAT mostrou correlação positiva com a subfração pequena da HDL (r = 0,3562; $p < 0,01$) e PON1 (r = 0,2805; $p < 0,05$). No entanto, apresentou correlação negativa com a CC (r = - 0,2837; $p < 0,05$).

A CETP se correlacionou positivamente com os triglicérides (r = 0,2975; $p < 0,05$) e CC (r = 0,3549; $p < 0,01$), e negativamente com a PON1 (r = - 0,3929; $p < 0,01$).

O IMC apresentou correlação positiva com os triglicérides (r = 0,5498; $p < 0,001$), transferência de CL para a HDL (r = 0,2753; $p < 0,05$), CC (r = 0,8626; $p < 0,001$), PCR-us (r = 0,4490; $p < 0,01$), PAS (r = 0,5222; $p < 0,001$) e PAD (r = 0,4035; $p < 0,01$). Negativamente se correlacionou com o HDL-c (r = - 0,4584; $p < 0,001$) e as subfrações grande (r = - 0,4223; $p < 0,01$) e intermediária da HDL (r = - 0,3049; $p < 0,05$).

A CC se correlacionou positivamente com os triglicérides (r = 0,5018; $p < 0,001$), CETP (r = 0,3549; $p < 0,01$), IMC (r = 0,8626; $p < 0,001$), PCR-us (r = 0,3237; $p < 0,05$), PAS (r = 0,3921; $p < 0,01$) e PAD (r = 0,2901; $p < 0,05$). Contudo, se correlacionou negativamente o HDL-c (r = - 0,4377; $p < 0,01$) e as subfrações grande (r = - 0,3968; $p < 0,01$) e intermediária da HDL (r = - 0,3714; $p < 0,05$).

A porcentagem de gordura corporal apresentou correlação positiva com os triglicérides (r = 0,3905; $p < 0,01$), transferência de CE para a HDL (r = 0,3030; $p < 0,01$), IMC (r = 0,7878; $p < 0,001$), CC (r = 0,5707; $p < 0,001$), PCR-us (r = 0,4315; $p < 0,01$), PAS (r = 0,4324; $p < 0,01$) e PAD (r = 0,3688; $p < 0,001$).

Tabela 9. Correlações entre escore de Agatston, perfil lipídico, parâmetros funcionais e metabólicos da HDL, e antropometria de pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica

Variáveis	Escore de Agatston	TG	HDL-c	Apo A-I	HDL $_G$	HDL $_I$	HDL $_P$	CL	CE	PON1	LCAT	CETP	IMC	CC	Gordura corporal
CT (mg/dL)	0,0260	^{b}0,3658	0,0612	0,0118	-0,1779	0,0108	0,2450	^{a}0,3205	^{c}0,6451	-0,1673	0,2353	0,0156	0,0575	-0,0656	0,1701
LDL-c (mg/dL)	0,0529	0,1750	0,0232	-0,0854	-0,1322	-0,0040	0,1350	0,1374	^{c}0,4845	-0,1912	0,2068	-0,0619	-0,0124	-0,1285	0,1071
Não HDL-c (mg/dL)	0,1852	^{c}0,4694	-0,0895	-0,1682	^{a}-0,2852	-0,1185	0,2174	0,2396	^{c}0,6227	-0,2040	0,1945	0,0458	0,1236	-0,0027	0,2061
HDL-c (mg/dL)	^{c}-0,6088	^{c}-0,4862	–	^{c}0,8023	^{c}0,7120	^{c}0,8401	0,1548	^{a}0,3023	0,1791	0,2315	0,2510	-0,2266	^{c}-0,4584	^{b}-0,4377	-0,2590
TG (g/L)	^{b}0,5543	–	^{c}-0,4862	-0,1457	^{c}-0,6969	^{b}-0,3621	^{b}0,4073	^{c}0,4407	^{c}0,5654	-0,2650	-0,1358	^{a}0,2975	^{c}0,5498	^{c}0,5018	^{b}0,3905
Apo A-I (g/)	^{a}-0,3812	-0,1457	^{c}0,8023	–	^{b}0,3736	^{c}0,8396	^{a}0,3049	^{c}0,6366	^{b}0,3811	0,2518	0,1928	-0,1449	-0,2027	-0,1752	-0,1039
Apo B (g/L)	0,3393	^{c}0,5302	-0,2037	-0,2214	^{b}-0,3594	-0,2641	0,2529	0,2538	^{c}0,6250	-0,2202	-0,0280	0,0027	0,1610	0,0810	0,2142
Lp(a) (mg/dL)	0,1007	0,0995	^{a}-0,3766	^{b}-0,4392	-0,2290	^{b}-0,3944	-0,0954	-0,1971	-0,0246	-0,0267	-0,1515	-0,1111	0,1739	0,0943	0,1562
HDL$_G$ (mg/dL)	^{c}-0,7030	^{c}-0,6969	^{c}0,7120	^{b}0,3736	–	^{c}0,4468	^{b}-0,3937	-0,1228	-0,1909	0,2606	0,0799	-0,1780	^{b}-0,4223	^{b}-0,3968	-0,2107
HDL $_I$ (mg/dL)	^{a}-0,3928	^{b}-0,3621	^{c}0,8401	^{c}0,8396	^{c}0,4468	–	0,0880	^{b}0,4108	0,1506	0,1982	0,1797	-0,2525	^{a}-0,3049	^{b}-0,3714	-0,2004
HDL$_P$ (mg/dL)	0,183	^{b}0,4073	0,1548	^{a}0,3049	^{b}-0,3937	0,0880	–	^{c}0,4992	^{c}0,4357	-0,0741	^{b}0,3562	0,0895	0,0407	0,1344	-0,0131
CL (%)	-0,0475	^{b}0,4407	^{a}0,3023	^{c}0,6366	-0,1228	^{b}0,4108	^{c}0,4992	–	^{c}0,8120	-0,0643	0,1356	0.1275	^{a}0,2753	0,2402	0,2416
CE (%)	0,2115	^{b}0,5654	0,1791	^{b}0,3811	-0,1909	0,1506	^{b}0,4357	^{c}0,8120	–	-0,1493	0,1345	0.1666	0,2238	0,1654	^{a}0,3030
PON1 (U/L)	-0,2005	-0,2650	0,2315	0,2518	0,2606	0,1982	-0,0741	-0,0643	-0,1493	–	^{a}0,2805	^{b}-0,3929	-0,2508	^{a}-0,2697	-0,0950
LCAT (µg/mL)	-0,1840	-0,1358	0,2510	0,1928	0,0799	0,1797	^{b}0,3562	0,1356	0,1345	^{a}0,2805	–	0,0509	-0,2187	^{a}-0,2837	-0,1174
CETP (µg/mL)	0,2231	^{a}0,2975	-0,2266	-0,1449	-0,1780	-0,2525	0,0895	0,1275	0,1666	^{b}-0,3929	0,0509	–	0,2553	^{b}0,3549	0,1121
IMC (Kg/m^2)	^{a}0,3747	^{c}0,5498	^{c}-0,4584	-0,2027	^{b}-0,4223	^{a}-0,3049	0,0407	^{a}0,2753	0,2238	-0,2508	-0.2187	0,2553	–	^{c}0,8626	^{c}0,7878
CC (cm)	^{a}0,3393	^{c}0,5018	^{b}-0,4377	-0,1752	^{b}-0,3968	^{b}-0,3714	0,1344	0,2402	0,1654	^{a}-0,2697	^{a}-0,2837	^{b}0,3549	^{c}0,8626	–	^{c}0,5707
PCR-us (mg/L)	-0,0239	0,1896	0,0818	^{a}0,2887	-0,0832	0,2079	0,1188	0,1379	0,1408	-0,0603	0,1107	0,1038	^{b}0,4490	^{a}0,3237	^{b}0,4315
PAS (mmHg)	0,3543	^{a}0,2966	^{a}-0,3407	-0,2572	-0,2600	-0,1759	0,0638	-0,0436	0,1080	-0,0703	0,0632	0,2790	^{c}0,5222	^{b}0,3921	^{b}0,4324
PAD (mmHg)	0,3133	0,1412	^{a}-0,2724	-0,2627	-0,1545	-0,1653	-0,0131	-0,2077	-0,0276	0,0043	0,0932	0,1417	^{b}0,4035	^{a}0,2901	^{c}0,3688

Legenda: CT: cholesterol total; LDL-c: colesterol de lipoproteína de baixa densidade; HDL-c: colesterol de lipoproteína de alta densidade, TG: triglicérides; Apo: apolipoproteína; HDL $_G$: HDL grande; HDL $_I$: HDL intermediária; HDL $_P$: HDL pequena; Lp(a): lipoproteína(a); CL: colesterol livre; CE: colesterol esterificado; PON1: paraoxonase 1; LCAT: lecitina-colesterol aciltransferase; CETP: proteína de transferência de cholesterol esterificado; IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; PCR-us: PCR ultrassensível; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica. $^a p < 0,05$; $^b p < 0,01$; $^c p < 0,001$. Correlações negativas estão realçadas em azul, enquanto correlações positivas estão destacadas em laranja.

6 DISCUSSÃO

Neste estudo de caso-controle, realizado com 53 pacientes diagnosticados geneticamente com hipercolesterolemia familiar heterozigótica, exploramos a relação da DAC subclínica com o metabolismo e a funcionalidade da HDL. Taxas de transferência menores de colesterol para HDL ou ação antioxidante reduzida, não caracterizaram o grupo HF+DACsc. A despeito da similaridade entre os grupos para a maioria dos parâmetros relacionados ao metabolismo e funcionalidade da HDL, a concentração da CETP foi maior no grupo HF+CADsc. Este achado pode oferecer insights valiosos sobre a relação entre a CETP e a presença de DAC subclínica no grupo de pacientes HF+CADsc.

A CETP atua nas trocas lipídicas, transferindo CE e triglicérides entre lipoproteínas que contém apo B-100 e a HDL (Charles; Kane, 2012). Em uma meta-análise de randomização mendeliana que avaliou um polimorfismo no gene *CETP*, foi constatado que a redução a longo prazo na concentração da CETP se associou de maneira causal com a diminuição no risco de DAC (Niu; Qi, 2015). Corroborando esse achado, Blauw et al. (2018) ao conduzirem um estudo de associação em todo o genoma (GWAS, *Genome Wide Association Studies*) afirmaram que a CETP estava causalmente relacionada ao desenvolvimento de DAC, pois o aumento em sua concentração resultou na diminuição do HDL-c e na elevação do LDL-c.

No presente estudo, a concentração da CETP foi mais elevada no grupo HF+DACsc em comparação com o grupo HF. Ao analisar o metabolismo lipídico de indivíduos com hipercolesterolemia familiar, especialmente no contexto do TRC, Bellanger et al. (2011) notaram que a transferência de CE mediada pela CETP é acelerada nesses indivíduos em comparação com normolipidêmicos, resultando em capacidade reduzida da HDL entregar CE para o fígado. Esse aumento na atividade da CETP em indivíduos com hipercolesterolemia familiar se relaciona tanto com a concentração da CETP, quanto com o número de partículas de LDL pequenas e densas disponíveis (Guérin et al., 1994).

Quanto à funcionalidade da HDL, não foram identificadas menores transferências de colesterol livre ou esterificado para a HDL no grupo HF+DACsc. Contudo, em estudos anteriores conduzidos em nosso laboratório, pacientes com DAC precoce (idade <50 anos) apresentaram menor transferência de colesterol para HDL em comparação com indivíduos sem DAC e perfil lipídico semelhante (Maranhão et al., 2012). Pacientes com diabetes

mellitus tipo 2 e DAC também apresentaram taxas de transferência de colesterol para HDL reduzidas em comparação com aqueles com diabetes, mas sem DAC, reforçando esse parâmetro como marcador consistente de risco para a função da HDL (Sprandel et al., 2015). Em estudo prévio, quando comparados a indivíduos normolipídicos, pacientes com hipercolesterolemia familiar apresentaram menor transferência de colesterol para HDL, sugerindo que o excesso de LDL perturba as trocas lipídicas no compartimento plasmático (Martinez et al., 2013). Portanto, com base nos resultados obtidos, a capacidade da HDL em receber colesterol de outras classes de lipoproteínas pode ser que não tenha sido uma característica que distinguiu os grupos devido ao estágio subclínico da doença.

No que tange à capacidade antioxidante da HDL, nenhum dos parâmetros medidos neste estudo apresentou foi diferente entre os dois grupos. Embora a habilidade da HDL de inibir a peroxidação dos fosfolipídios na LDL seja claramente definida em testes *in vitro*, estudos clínicos que comparam indivíduos com e sem DAC podem apresentar resultados conflitantes. Enquanto Patel et al. (2011) não encontraram diferença na capacidade antioxidante da HDL entre pacientes com DAC crônica e controles sem DAC, Distelmaier et al. (2015) relataram que a HDL de pacientes com DAC prematura apresentavam menor capacidade antioxidante em comparação com controles sem DAC. Contudo, Haussen et al. (2016) mostraram que na hipercolesterolemia familiar há aumento do estresse oxidativo e redução das atividades tanto antioxidantes quanto anti-inflamatórias associadas às partículas de HDL3 (Haussen et al., 2016). Essa deficiência funcional está diretamente relacionada à alterações na composição lipídica e proteica da HDL, o que compromete a capacidade da lipoproteína remover e neutralizar lípides oxidados (Badimon; Padró; Cubedo, 2017).

A PON1, uma enzima antioxidante associada à fração HDL, é responsável por uma parte significativa da capacidade antioxidante da HDL. Além disso, foi constatado que a PON1 facilita o efluxo de colesterol dos macrófagos ao promover a interação da HDL com o transportador ABCA1, prevenindo a aterosclerose (Rosenblat et al., 2005). Existe uma associação entre genótipos individuais e a atividade da PON1 com medidas sistêmicas de estresse oxidativo e risco cardiovascular prospectivo (Bhattacharyya et al., 2008). Em um estudo conduzido em indivíduos com hipercolesterolemia familiar, Van Himbergen et al. (2005) avaliaram polimorfismos associados à atividade aumentada da PON1, prevendo concentrações mais elevadas de HDL-c. No entanto, nesse estudo, não foi encontrada correlação com a espessura média da íntima-média (IMT) carotídea.

Idrees et al. (2018) investigaram as implicações dos polimorfismos associados à PON1 em indivíduos com hipercolesterolemia familiar e os compararam com seus familiares normolipidêmicos. Eles concluíram que a combinação desses polimorfismos na PON1, juntamente com variantes no gene *LDLR*, pode resultar em uma forma mais grave da doença aterosclerótica, manifesta como evento cardíaco fatal. Contudo, em nossa pesquisa, não detectamos diferença na atividade da PON1 entre os grupos HF+DACsc e HF. Se a função antioxidante da HDL foi comprometida primariamente em nossos pacientes, e assim, tornou-se um fator não relevante para função antiaterogênica da HDL, é complexo interpretar e exigiria um estudo dedicado comparando-os com indivíduos normolipidêmicos.

A LCAT catalisa a conversão do CL em CE, uma etapa essencial para estabilização do colesterol no compartimento plasmático. A esterificação do colesterol promove a transição de pré-β-HDL para a forma madura e esférica da HDL (Glomset, 1968). Estudos em diferentes grupos populacionais, incluindo a população em geral, indivíduos com alto risco cardiovascular e indivíduos portadores de variantes genéticas associadas à redução da concentração e atividade da enzima LCAT, mostram resultados divergentes em relação à aterosclerose (Ossoli et al., 2016). Contudo, em estudos sobre a cinética das formas de colesterol, foi observado que em pacientes com DAC, a remoção do CL do plasma foi mais rápida em comparação com CE, sugerindo que o CL dissocia da partícula de lipoproteína e precipita na parede arterial (Santos et al., 2003; Couto et al., 2007).

Cubedo et al.; (2016) identificaram que pacientes com hipercolesterolemia familiar apresentavam concentrações de apo A-I e LCAT mais baixas quando comparados com seus familiares não afetados. Nesse estudo, pacientes com hipercolesterolemia familiar que vieram a óbito devido a um evento cardíaco fatal apresentaram conteúdo reduzido de LCAT na HDL3, em média, 3,5 anos antes do evento, em comparação com aqueles que sobreviveram. De qualquer forma, nenhuma diferença na concentração de LCAT entre HF+DAC e HF foi encontrada em nosso estudo.

Neste nosso estudo, em ambos os grupos HF+DACsc e HF, houve predominância do fenótipo de subfração de partículas pequenas de HDL sobre a subfração de partículas grandes de HDL. Também observamos correlação negativa entre a subfração de HDL grande e o escore de Agaston. Em muitos trabalhos, esse fenótipo está associado a menos proteção da HDL contra a aterosclerose e maior incidência de DAC (Xu et al., 2015; Zhang et al., 2016).

De acordo com nossos resultados, Sanz et al. (2023) também encontraram predominância da subfração de partículas pequenas de HDL em pacientes com hipercolesterolemia familiar. O fato de não haver diferença entre os grupos HF+DACsc e HF em relação ao perfil de subfração de HDL está, portanto, associado a um perfil de subfração de HDL perturbado, provavelmente resultante do excesso de partículas de LDL e fluxos de colesterol alterados no compartimento intravascular.

Baixas concentrações de HDL-c e apo A-I são fatores de risco clássicos e amplamente reconhecidos de DAC (Sharrett et al., 2001; ERFC et al., 2009). Embora não haja consenso, um estudo de coorte multicêntrico com 2400 pacientes com hipercolesterolemia familiar mostrou que o HDL-c pode estar reduzido nesse grupo individuos (Jansen et al., 2004). O HDL-c menor que 40 mg/dl é considerado fator de risco cardiovascular adicional em indivíduos com hipercolesterolemia familiar (Izar et al., 2021). Em nossa análise, tanto o grupo HF+DACsc quanto o grupo HF não apresentaram valores médios reduzidos de HDL-c ou apo A-I, nem mostraram diferenças significativas entre si. No entanto, foi observada correlação negativa entre o escore de Agaston e o HDL-c no grupo HF+DACsc.

As lipoproteínas aterogênicas desempenham papel causal central na iniciação e progressão da aterosclerose, manter concentrações lipídicas ideais é necessário para prevenir o risco cardiovascular (Ference et al., 2018). O controle ótimo do LDL-c deve ser iniciado desde cedo, incluindo a população geral (Domanski et al., 2020). Em nosso estudo observamos que mesmo sob terapia os pacientes tanto do grupo HF+DACsc quanto do grupo HF apresentaram LDL-c moderadamente elevado e fora da meta para indivíduos com hipercolesterolemia familiar. Zhang et al. (2024) mostrou que a presença de variantes associadas à hipercolesterolemia familiar se relacionou com risco duas vezes maior de DAC, mesmo quando o LDL-c estava apenas moderadamente elevado (130 e 189 mg/dL). Isso sugere que o aumento do risco de DAC pode ser principalmente devido à exposição cumulativa ao LDL-c.

A relação apo B/apo A-I apresentou-se igualmente elevada nos grupos HF+DACsc e HF. Walldius e Jungner (2006) sugeriram pontos de corte de 0,9 para homens e 0,8 para mulheres, sendo que valores maiores representariam risco aumentado para doenças cardiovasculares. O resultado das análises dos estudos AMORIS e INTERHEART

estabeleceram faixas de risco para IAM baseado na relação apo B/apo A-I (Walldius et al., 2001; Yusuf et al., 2004).

Quanto aos triglicérides, não identificamos diferenças entre os grupos caso e controle. Entretanto, a mediana do grupo HF+DACsc ultrapassa o valor de referência estabelecido pelas principais diretrizes nacionais e internacionais (Faludi et al., 2017; Grundy et al., 2019; Visseren et al., 2021). Essa observação destaca o papel ativo das lipoproteínas ricas em triglicérides no desenvolvimento da aterosclerose, revelando uma relação causal persistente mesmo após reduções significativas do LDL-c (Libby, 2021).

Um estudo centrado na população do UK Biobank, estimou que a aterogenicidade da Lp(a) por partícula é cerca de seis vezes maior do que a da LDL (HR 6,6; IC 95%: 5,1-8,8) (Björnson et al., 2024). A concentração plasmática da Lp(a) deve ser solicitada para estratificação de risco cardiovascular em pacientes com hipercolesterolemia familiar (Watts et al., 2023). Concentração de Lp(a) acima de 50mg/dL é considerada fator de risco adicional para esses indivíduos (Izar et al., 2021). Na hipercolesterolemia familiar os níveis de Lp(a) parecem ser mais elevados em comparação com a população em geral (Langsted et al., 2016).

Em um estudo que avaliou indivíduos com hipercolesterolemia familiar e seus irmãos não afetados, foi constatado que os indivíduos com a variante apresentavam concentração de Lp(a) duas vezes maior, mesmo expressando isoformas idênticas de apo(a) por descendência (Lingenhel et al., 1998). Em nosso estudo a concentração da Lp(a) não foi diferente entre os grupos HF+DACsc e HF. Entretanto observamos correlação negativa entre a Lp(a) e o HDL-c e a apo A-I. A Lp(a). É conhecido que a Lp(a) tem a capacidade de interagir com a apo A-I, e essa interação pode levar à inativação da apo A-I, reduzindo sua eficiência na promoção do TRC e na proteção do organismo contra a aterosclerose (Onat et al., 2013).

No que diz respeito à história clínica dos pacientes, a presença de história familiar de DAC precoce em parente de primeiro grau distinguiu o grupo HF+DACsc do grupo HF. Esse dado clínico é significativo, uma vez que faz parte dos critérios diagnósticos da hipercolesterolemia familiar, da mesma forma que os sinais patognomônicos associados à essa condição (Nordestgaard et al., 2013; Gidding et al., 2015; Mach et al., 2020; Izar et al., 2021; Watts et al., 2023). A presença de depósito de colesterol extravascular, especialmente os xantomas tendinosos, também foi mais prevalente no grupo HF+DACsc.

Mesmo após análise multivariada, a presença de história familiar de DAC precoce em parente de primeiro grau e os sinais patognomônicos associados à hipercolesterolemia mantiveram-se associados à DAC subclínica com OR 3,97 (IC 95% 1,06 – 14,80) e OR 3,65 (IC 95% 1,06 – 12,60), respectivamente. Em um estudo envolvendo indivíduos com hipercolesterolemia familiar heterozigótica, a detecção de xantomas tendinosos foi correlacionada a maior prevalência de DCV (Cirivela et al., 2005).

Em nosso estudo, o grupo HF+DACsc apresentou PAS mais elevada em comparação com o grupo HF. Na análise univariada, a OR foi de 1,05 (IC 95% 1,01 – 1,09), mas na análise multivariada não se manteve. Em pacientes com hipercolesterolemia familiar, a hipertensão arterial sistêmica é um fator de risco independente para eventos cardiovasculares. Além disso, o controle da pressão arterial nesses pacientes com está associado com desfechos piores (Liu et al., 2022).

O IMC médio de sobrepeso, valores médios de circunferência de cintura elevados e porcentagem de gordura corporal alta tanto no grupo HF+DACsc quanto no grupo HF indicam risco aumentado de doenças cardiovasculares (Veronese et al., 2016; Huxley et al., 2010). Em nosso estudo, a análise de correlação mostrou que essas variáveis antropométricas estão positivamente correlacionadas com os triglicérides, a PCR-us e a PAS. Tada et al. (2023) investigaram a associação da interação entre genótipos e estilo de vida e a ocorrência de MACE. Eles observaram que um estilo de vida saudável que prioriza um padrão alimentar adequado, exercícios regulares, abstinência do tabagismo e controle adequado do peso, reduz o risco de MACE em indivíduos com hipercolesterolemia familiar.

7 CONCLUSÃO

Neste estudo, o grupo HF+DACsc não apresentou taxas de transferências mais baixas de colesterol para HDL ou ação antioxidante reduzida, entre outros parâmetros relacionados ao metabolismo da HDL que poderiam ter influenciado o desenvolvimento de DAC nesses pacientes. O fato da CETP estar aumentada no grupo HF+DACsc pode sugerir que esta proteína possa ser marcador de presença de DAC na hipercolesterolemia familiar. A maior prevalência de história familiar de DAC precoce e a presença de sinais patognomônicos da hipercolesterolemia familiar, especialmente os xantomas tendinosos, no grupo HF+DACsc, sugere que fatores de natureza diversa, não explorados neste estudo, podem ter sido preponderantes para o desenvolvimento de DAC no grupo HF+DACsc.

REFERÊNCIAS[1]

Agatston AS, Janowitz WR, Hildner FJ, Zusmer NR, Viamonte M Jr, Detrano R. Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. **J Am Coll Cardiol**. 1990 Mar 15;15(4):827-32.

AIM-HIGH Investigators, Boden WE, Probstfield JL, Anderson T, Chaitman BR, Desvignes Nickens P, Koprowicz K, McBride R, Teo K, Weintraub W. Niacin in patients with low HDL cholesterol levels receiving intensive statin therapy. **N Engl J Med**. 2011 Dec 15;365(24):2255-67.

Ajala ON, Demler OV, Liu Y, Farukhi Z, Adelman SJ, Collins HL, Ridker PM, Rader DJ, Glynn RJ, Mora S. Anti-Inflammatory HDL Function, Incident Cardiovascular Events, and Mortality: A Secondary Analysis of the JUPITER Randomized Clinical Trial. **J Am Heart Assoc**. 2020 Sep;9(17):e016507.

Andersen LH, Miserez AR, Ahmad Z, Andersen RL. Familial defective apolipoprotein B-100: A review. **J Clin Lipidol**. 2016; 10(6):1297-1302.

Andersson J, Libby P, Hansson GK. Adaptive immunity and atherosclerosis. **Clin Immunol**. 2010 Jan;134(1):33-46.

Asztalos BF, Tani M, Schaefer EJ. Metabolic and functional relevance of HDL subspecies. **Curr Opin Lipidol**. 2011 Jun;22(3):176-85.

Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Genetic causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolemia: a HuGE prevalence review. **Am J Epidemiol**. 2004 Sep 1;160(5):407-20.

Awan Z, Choi HY, Stitziel N, Ruel I, Bamimore MA, Husa R, Gagnon MH, Wang RH, Peloso GM, Hegele RA, Seidah NG, Kathiresan S, Genest J. APOE p.Leu167del mutation in familial hypercholesterolemia. **Atherosclerosis**. 2013 Dec;231(2):218-22.

Badimon L, Padró T, Cubedo J. Protein changes in non-LDL-lipoproteins in familial hypercholesterolemia: implications in cardiovascular disease manifestation and outcome. **Curr Opin Lipidol**. 2017 Oct;28(5):427-433.

Barbosa CJDG, Maranhão RC, Barreiros RS, Freitas FR, Franci A, Strunz CMC, Arantes FBB, Tavoni TM, Ramires JAF, Kalil Filho R, Nicolau JC. Lipid transfer to high-density lipoproteins in coronary artery disease patients with and without previous cerebrovascular ischemic events. **Clin Cardiol**. 2019 Nov;42(11):1100-1105.

Barter PJ, Caulfield M, Eriksson M, Grundy SM, Kastelein JJ, Komajda M, Lopez-Sendon J, Mosca L, Tardif JC, Waters DD, Shear CL, Revkin JH, Buhr KA, Fisher MR, Tall AR, Brewer B; ILLUMINATE Investigators. Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary events. **N Engl J Med**. 2007 Nov 22;357(21):2109-22.

Beheshti SO, Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Worldwide Prevalence of Familial Hypercholesterolemia: Meta-Analyses of 11 Million Subjects. **J Am Coll Cardiol**. 2020 May 26;75(20):2553-2566.

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

Bellanger N, Orsoni A, Julia Z, Fournier N, Frisdal E, Duchene E, Bruckert E, Carrie A, Bonnefont-Rousselot D, Pirault J, Saint-Charles F, Chapman MJ, Lesnik P, Le Goff W, Guerin M. Atheroprotective reverse cholesterol transport pathway is defective in familial hypercholesterolemia. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 2011 Jul;31(7):1675-81.

Benn M, Watts GF, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Familial hypercholesterolemia in the danish general population: prevalence, coronary artery disease, and cholesterol-lowering medication. **J Clin Endocrinol Metab**. 2012 Nov;97(11):3956-64.

Bennett MR, Sinha S, Owens GK. Vascular Smooth Muscle Cells in Atherosclerosis. **Circ Res**. 2016 Feb 19;118(4):692-702.

Bentzon JF, Otsuka F, Virmani R, Falk E. Mechanisms of plaque formation and rupture. **Circ Res**. 2014 Jun 6; 114(12):1852-66.

Berberich AJ, Hegele RA. The complex molecular genetics of familial hypercholesterolaemia. **Nat Rev Cardiol**. 2019 Jan;16(1):9-20.

Besseling J, Kindt I, Hof M, Kastelein JJ, Hutten BA, Hovingh GK. Severe heterozygous familial hypercholesterolemia and risk for cardiovascular disease: a study of a cohort of 14,000 mutation carriers. **Atherosclerosis**. 2014 Mar;233(1):219-23.

Bhattacharyya T, Nicholls SJ, Topol EJ, Zhang R, Yang X, Schmitt D, Fu X, Shao M, Brennan DM, Ellis SG, Brennan ML, Allayee H, Lusis AJ, Hazen SL. Relationship of paraoxonase 1 (PON1) gene polymorphisms and functional activity with systemic oxidative stress and cardiovascular risk. **JAMA**. 2008 Mar 19;299(11):1265-76.

Björkegren JLM, Lusis AJ. Atherosclerosis: Recent developments. **Cell**. 2022 May 12;185(10):1630-1645.

Björnsson E, Adiels M, Taskinen MR, Burgess S, Chapman MJ, Packard CJ, Borén J. Lipoprotein(a) Is Markedly More Atherogenic Than LDL: An Apolipoprotein B-Based Genetic Analysis. **J Am Coll Cardiol**. 2024 Jan 23;83(3):385-395.

Björnsson E, Thorgeirsson G, Helgadóttir A, Thorleifsson G, Sveinbjörnsson G, Kristmundsdóttir S, Jónsson H, Jónasdóttir A, Jónasdóttir Á, Sigurðsson Á, Guðnason T, Ólafsson Í, Sigurðsson EL, Sigurðardóttir Ó, Viðarsson B, Baldvinsson M, Bjarnason R, Danielsen R, Matthíasson SE, Thórarinsson BL, Grétarsdóttir S, Steinthórsdóttir V, Halldórsson BV, Andersen K, Arnar DO, Jónsdóttir I, Guðbjartsson DF, Hólm H, Thorsteinsdóttir U, Sulem P, Stefánsson K. Large-Scale Screening for Monogenic and Clinically Defined Familial Hypercholesterolemia in Iceland. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 2021 Oct;41(10):2616-2628.

Blauw LL, Li-Gao R, Noordam R, de Mutsert R, Trompet S, Berbée JFP, Wang Y, van Klinken JB, Christen T, van Heemst D, Mook-Kanamori DO, Rosendaal FR, Jukema JW, Rensen PCN, Willems van Dijk K. CETP (Cholesteryl Ester Transfer Protein) Concentration: A Genome-Wide Association Study Followed by Mendelian Randomization on Coronary Artery Disease. **Circ Genom Precis Med**. 2018 May;11(5):e002034.

Boekholdt SM, Arsenault BJ, Hovingh GK, Mora S, Pedersen TR, Larosa JC, Welch KM, Amarenco P, Demicco DA, Tonkin AM, Sullivan DR, Kirby A, Colhoun HM, Hitman GA,

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

Betteridge DJ, Durrington PN, Clearfield MB, Downs JR, Gotto AM Jr, Ridker PM, Kastelein JJ. Levels and changes of HDL cholesterol and apolipoprotein A-I in relation to risk of cardiovascular events among statin-treated patients: a meta-analysis. **Circulation**. 2013 Oct 1;128(14):1504-12.

Budoff MJ, Dowe D, Jollis JG, Gitter M, Sutherland J, Halamert E, Scherer M, Bellinger R, Martin A, Benton R, Delago A, Min JK. Diagnostic performance of 64-multidetector row coronary computed tomographic angiography for evaluation of coronary artery stenosis in individuals without known coronary artery disease: results from the prospective multicenter ACCURACY (Assessment by Coronary Computed Tomographic Angiography of Individuals Undergoing Invasive Coronary Angiography) trial. **J Am Coll Cardiol**. 2008 Nov 18;52(21):1724-32. doi: 10.1016/j.jacc.2008.07.031. PMID: 19007693.

Castelli WP, Doyle JT, Gordon T, Hames CG, Hjortland MC, Hulley SB, Kagan A, Zukel WJ. HDL cholesterol and other lipids in coronary heart disease. The cooperative lipoprotein phenotyping study. **Circulation**. 1977 May;55(5):767-72.

Castro GR , Fielding CJ. Early incorporation of cell-derived cholesterol into pre-beta-migrating high-density lipoprotein. **Biochemistry**. 1988; 27(1):25-9.

Chapman MJ, Goldstein S, Lagrange D, Laplaud PM. A density gradient ultracentrifugal procedure for the isolation of the major lipoprotein classes from human serum. **J Lipid Res**.1981; 22(2):339-58.

Charles MA, Kane JP. New molecular insights into CETP structure and function: a review. **J Lipid Res**. 2012 Aug;53(8):1451-8.

Chemello K, García-Nafría J, Gallo A, Martín C, Lambert G, Blom D. Lipoprotein metabolism in familial hypercholesterolemia. **J Lipid Res**. 2021;62:100062.

Chora JR, Iacocca MA, Tichý L, Wand H, Kurtz CL, Zimmermann H, Leon A, Williams M, Humphries SE, Hooper AJ, Trinder M, Brunham LR, Costa Pereira A, Jannes CE, Chen M, Chonis J, Wang J, Kim S, Johnston T, Soucek P, Kramarek M, Leigh SE, Carrié A, Sijbrands EJ, Hegele RA, Freiberger T, Knowles JW, Bourbon M; ClinGen Familial Hypercholesterolemia Expert Panel. The Clinical Genome Resource (ClinGen) Familial Hypercholesterolemia Variant Curation Expert Panel consensus guidelines for LDLR variant classification. **Genet Med**. 2022 Feb;24(2):293-306.

Civeira F, Castillo S, Alonso R, Meriño-Ibarra E, Cenarro A, Artied M, Martín-Fuentes P, Ros E, Pocoví M, Mata P; Spanish Familial Hypercholesterolemia Group. Tendon xanthomas in familial hypercholesterolemia are associated with cardiovascular risk independently of the low-density lipoprotein receptor gene mutation. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 2005 Sep;25(9):1960-5.

Cockerill GW, Rye KA, Gamble JR, Vadas MA, Barter PJ. High-density lipoproteins inhibit cytokine-induced expression of endothelial cell adhesion molecules. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 1995 Nov;15(11):1987-94.

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

Couto RD, Dallan LA, Lisboa LA, Mesquita CH, Vinagre CG, Maranhão RC. Deposition of free cholesterol in the blood vessels of patients with coronary artery disease: a possible novel mechanism for atherogenesis. **Lipids**. 2007 42(5):408-11.

Cuchel M, Bruckert E, Ginsberg HN, Raal FJ, Santos RD, Hegele RA, Kuivenhoven JA, Nordestgaard BG, Descamps OS, Steinhagen-Thiessen E, Tybjærg-Hansen A, Watts GF, Averna M, Boileau C, Borén J, Catapano AL, Defesche JC, Hovingh GK, Humphries SE, Kovanen PT, Masana L, Pajukanta P, Parhofer KG, Ray KK, Stalenhoef AF, Stroes E, Taskinen MR, Wiegman A, Wiklund O, Chapman MJ. Homozygous familial hypercholesterolaemia: new insights and guidance for clinicians to improve detection and clinical management. A position paper from the Consensus Panel on Familial Hypercholesterolaemia of the European Atherosclerosis Society. **Eur Heart J**. 2014;35(32):2146-57.

Davidson WS, Shah AS, Sexmith H, Gordon SM. The HDL Proteome Watch: Compilation of studies leads to new insights on HDL function. **Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids**. 2022 Feb;1867(2):159072.

Davidson WS, Silva RA, Chantepie S, Lagor WR, Chapman MJ, Kontush A. Proteomic analysis of defined HDL subpopulations reveals particle-specific protein clusters: relevance to antioxidative function. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 2009 Jun;29(6):870-6.

Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. **Circulation**. 2004 Jun 15;109(23 Suppl 1):III27-32.

De Oliveira WPC, Tavoni TM, Freitas FR, Silva BMO, Maranhão RC. Lipid transfers to HDL are diminished in long-term bedridden patients: association with low HDL-cholesterol and increased inflammatory markers. **Lipids**. 2017; 52(8):703-709.

Distelmaier K, Wiesbauer F, Blessberger H, Oravec S, Schrutka L, Binder C, Dostal E, Schillinger M, Wojta J, Lang IM, Maurer G, Huber K, Goliasch G. Impaired antioxidant HDL function is associated with premature myocardial infarction. **Eur J Clin Invest**. 2015 Jul;45(7):731-8.

Domanski MJ, Tian X, Wu CO, Reis JP, Dey AK, Gu Y, Zhao L, Bae S, Liu K, Hasan AA, Zimrin D, Farkouh ME, Hong CC, Lloyd-Jones DM, Fuster V. Time Course of LDL Cholesterol Exposure and Cardiovascular Disease Event Risk. **J Am Coll Cardiol**. 2020 Sep 29;76(13):1507-1516.

Durnin JV, Womersley J. Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. **Br J Nutr**. 1974 Jul;32(1):77-97.

Emerging Risk Factors Collaboration; Di Angelantonio E, Sarwar N, Perry P, Kaptoge S, Ray KK, Thompson A, Wood AM, Lewington S, Sattar N, Packard CJ, Collins R, Thompson SG, Danesh J. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. **JAMA**. 2009 Nov 11;302(18):1993-2000.

Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, Rotheneder M. Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. **Free Radic Res Commun**. 1989;6(1):67-75.

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

Faludi AA, Izar MCO, Saraiva JFK, Chacra APM, Bianco HT, Afiune A Neto, Bertolami A, Pereira AC, Lottenberg AM, Sposito AC, Chagas ACP, Casella A Filho, Simão AF, Alencar AC Filho, Caramelli B, Magalhães CC, Negrão CE, Ferreira CEDS, Scherr C, Feio CMA, Kovacs C, Araújo DB, Magnoni D, Calderaro D, Gualandro DM, Mello EP Junior, Alexandre ERG, Sato EI, Moriguchi EH, Rached FH, Santos FCD, Cesena FHY, Fonseca FAH, Fonseca HARD, Xavier HT, Mota ICP, Giuliano ICB, Issa JS, Diament J, Pesquero JB, Santos JED, Faria JR Neto, Melo JX Filho, Kato JT, Torres KP, Bertolami MC, Assad MHV, Miname MH, Scartezini M, Forti NA, Coelho OR, Maranhão RC, Santos RDD Filho, Alves RJ, Cassani RL, Betti RTB, Carvalho T, Martinez TLDR, Giraldez VZR, Salgado W Filho. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017. **Arq Bras Cardiol**. 2017 Jul;109(2 Supl 1):1-76. Portuguese.

Ference BA, Ginsberg HN, Graham I, Ray KK, Packard CJ, Bruckert E, Hegele RA, Krauss RM, Raal FJ, Schunkert H, Watts GF, Borén J, Fazio S, Horton JD, Masana L, Nicholls SJ, Nordestgaard BG, van de Sluis B, Taskinen MR, Tokgözoglu L, Landmesser U, Laufs U, Wiklund O, Stock JK, Chapman MJ, Catapano AL. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. **Eur Heart J**. 2017 Aug 21;38(32):2459-2472.

Ference BA, Graham I, Tokgozoglu L, Catapano AL. Impact of Lipids on Cardiovascular Health: JACC Health Promotion Series. **J Am Coll Cardiol**. 2018 Sep 4;72(10):1141-1156.

Fouchier SW, Dallinga-Thie GM, Meijers JC, Zelcer N, Kastelein JJ, Defesche JC, Hovingh GK. Mutations in STAP1 are associated with autosomal dominant hypercholesterolemia. **Circ Res**. 2014 Aug 29;115(6):552-5.

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(6) 499-502.

Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Stene MC, Sethi AA, Remaley AT, Schnohr P, Grande P, Tybjaerg-Hansen A. Association of loss-of-function mutations in the ABCA1 gene with high-density lipoprotein cholesterol levels and risk of ischemic heart disease. **JAMA**. 2008 Jun 4;299(21):2524-32.

Gallo A, Charriere S, Vimont A, Chapman MJ, Angoulvant D, Boccara F, Cariou B, Carreau V, Carrié A, Bruckert E, Béliard S; French REgistry of Familial hypERCHOLesterolemia (REFERCHOL) investigators. SAFEHEART risk-equation and cholesterol-year-score are powerful predictors of cardiovascular events in French patients with familial hypercholesterolemia. **Atherosclerosis**. 2020 Aug;306:41-49.

Gallo A, Giral P, Carrié A, Carreau V, Béliard S, Bittar R, Maranghi M, Arca M, Cluzel P, Redheuil A, Bruckert E, Rosenbaum D. Early coronary calcifications are related to cholesterol burden in heterozygous familial hypercholesterolemia. **J Clin Lipidol**. 2017 May-Jun;11(3):704-711.e2.

Garcia CK, Wilund K, Arca M, Zuliani G, Fellin R, Maioli M, Calandra S, Bertolini S, Cossu F, Grishin N, Barnes R, Cohen JC, Hobbs HH. Autosomal recessive hypercholesterolemia

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein. **Science**. 2001 May 18;292(5520):1394-8.

Genest J, Hegele RA, Bergeron J, Brophy J, Carpentier A, Couture P, Davignon J, Dufour R, Frohlich J, Gaudet D, Gupta M, Krisnamoorthy P, Mancini J, McCrindle B, Raggi P, Ruel I, St-Pierre J. Canadian Cardiovascular Society position statement on familial hypercholesterolemia. **Can J Cardiol**. 2014 Dec;30(12):1471-81.

Gidding, SS, Champagne MA, de Ferranti SD, Defesche J, Ito MK, Knowles JW, McCrindle B, Raal F, Rader D, Santos RD, Lopes-Virella M, Watts GF, Wierzbicki AS. The Agenda for Familial Hypercholesterolemia: A Scientific Statement from the American Heart Association. **Circulation**. 2015; 132(22):2167–92.

Giribela AH, Melo NR, Latrilha MC, Baracat EC, Maranhão RC. HDL concentration, lipid transfer to HDL, and HDL size in normolipidemic nonobese menopausal women. **Int J Gynaecol Obstet.** 2009;104(2):117-20.

Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. **N Engl J Med**. 1987 May 28;316(22):1371-5.

Glomset JA. The plasma lecithins:cholesterol acyltransferase reaction. **J Lipid Res**. 1968 Mar;9(2):155-67.

Golub IS, Termeie OG, Kristo S, Schroeder LP, Lakshmanan S, Shafter AM, Hussein L, Verghese D, Aldana-Bitar J, Manubolu VS, Budoff MJ. Major Global Coronary Artery Calcium Guidelines. **JACC Cardiovasc Imaging**. 2023 Jan;16(1):98-117.

Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. **Am J Med**. 1977 May;62(5):707-14.

Goyal J, Wang K, Liu M, Subbaiah PV. Novel function of lecithin-cholesterol acyltransferase. Hydrolysis of oxidized polar phospholipids generated during lipoprotein oxidation. **J Biol Chem.** 1997 Jun 27;272(26):16231-9.

Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC Jr, Spertus JA, Costa F; American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. **Circulation**. 2005 Oct 25;112(17):2735-52.

Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, Beam C, Birtcher KK, Blumenthal RS, Braun LT, de Ferranti S, Faiella-Tommasino J, Forman DE, Goldberg R, Heidenreich PA, Hlatky MA, Jones DW, Lloyd-Jones D, Lopez-Pajares N, Ndumele CE, Orringer CE, Peralta CA, Saseen JJ, Smith SC Jr, Sperling L, Virani SS, Yeboah J. 2018. AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. **Circulation**. 2019 Jun 18;139(25):e1082-e1143.

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

Guérin M, Dolphin PJ, Chapman MJ. Preferential cholesteryl ester acceptors among the LDL subspecies of subjects with familial hypercholesterolemia. **Arterioscler Thromb**. 1994 May;14(5):679-85.

Haase A, Goldberg AC. Identification of people with heterozygous familial hypercholesterolemia. **Curr Opin Lipidol**. 2012 Aug;23(4):282-9.

Haase CL, Tybjærg-Hansen A, Qayyum AA, Schou J, Nordestgaard BG, Frikke-Schmidt R. LCAT, HDL cholesterol and ischemic cardiovascular disease: a Mendelian randomization study of HDL cholesterol in 54,500 individuals. **J Clin Endocrinol Metab**. 2012 Feb;97(2):E248-56.

Hall J, Qiu X. Structural and biophysical insight into cholesteryl ester-transfer protein. **Biochem Soc Trans**. 2011 Aug;39(4):1000-5.

Harada PH, Miname MH, Benseñor IM, Santos RD, Lotufo PA. Familial hypercholesterolemia prevalence in an admixed racial society: Sex and race matter. The ELSA-Brasil. **Atherosclerosis**. 2018 Oct;277:273-277.

Hussein H, Saheb S, Couturier M, Atassi M, Orsoni A, Carrié A, Therond P, Chantepie S, Robillard P, Bruckert E, Chapman MJ, Kontush A. Small, dense high-density lipoprotein 3 particles exhibit defective antioxidative and anti-inflammatory function in familial hypercholesterolemia: Partial correction by low-density lipoprotein apheresis. **J Clin Lipidol**. 2016 Jan-Feb;10(1):124-33.

Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. **J Clin Invest**. 1955 Sep;34(9):1345-53.

Hegele RA, Borén J, Ginsberg HN, Arca M, Averna M, Binder CJ, Calabresi L, Chapman MJ, Cuchel M, von Eckardstein A, Frikke-Schmidt R, Gaudet D, Hovingh GK, Kronenberg F, Lütjohann D, Parhofer KG, Raal FJ, Ray KK, Remaley AT, Stock JK, Stroes ES, Tokgözoğlu L, Catapano AL. Rare dyslipidaemias, from phenotype to genotype to management: a European Atherosclerosis Society task force consensus statement. **Lancet Diabetes Endocrinol**. 2020 Jan;8(1):50-67.

Hopkins PN, Defesche J, Fouchier SW, Bruckert E, Luc G, Cariou B, Sjouke B, Leren TP, Harada-Shiba M, Mabuchi H, Rabès JP, Carrié A, van Heyningen C, Carreau V, Farnier M, Teoh YP, Bourbon M, Kawashiri MA, Nohara A, Soran H, Marais AD, Tada H, Abifadel M, Boileau C, Chanu B, Katsuda S, Kishimoto I, Lambert G, Makino H, Miyamoto Y, Pichelin M, Yagi K, Yamagishi M, Zair Y, Mellis S, Yancopoulos GD, Stahl N, Mendoza J, Du Y, Hamon S, Krempf M, Swergold GD. Characterization of Autosomal Dominant Hypercholesterolemia Caused by PCSK9 Gain of Function Mutations and Its Specific Treatment with Alirocumab, a PCSK9 Monoclonal Antibody. **Circ Cardiovasc Genet**. 2015; 8(6):823-31.

HPS3/TIMI55–REVEAL Collaborative Group, Bowman L, Hopewell JC, Chen F, Wallendszus K, Stevens W, Collins R, Wiviott SD, Cannon CP, Braunwald E, Sammons E, Landray MJ. Effects of Anacetrapib in Patients with Atherosclerotic Vascular Disease. **N Engl J Med**. 2017 Sep 28;377(13):1217-1227.

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

Huuskonen J, Olkkonen VM, Jauhiainen M, Ehnholm C. The impact of phospholipid transfer protein (PLTP) on HDL metabolism. **Atherosclerosis**. 2001 Apr;155(2):269-81.

Huxley R, Mendis S, Zheleznyakov E, Reddy S, Chan J. Body mass index, waist circumference and waist:hip ratio as predictors of cardiovascular risk--a review of the literature. **Eur J Clin Nutr**. 2010 Jan;64(1):16-22.

Iacocca MA, Chora JR, Carrié A, Freiberger T, Leigh SE, Defesche JC, Kurtz CL, DiStefano MT, Santos RD, Humphries SE, Mata P, Jannes CE, Hooper AJ, Wilemon KA, Benlian P, O'Connor R, Garcia J, Wand H, Tichy L, Sijbrands EJ, Hegele RA, Bourbon M, Knowles JW; ClinGen FH Variant Curation Expert Panel. ClinVar database of global familial hypercholesterolemia-associated DNA variants. **Hum Mutat**. 2018 Nov;39(11):1631-1640.

Idrees M, Siddiq AR, Ajmal M, Akram M, Khalid RR, Hussain A, Qamar R, Bokhari H. Decreased serum PON1 arylesterase activity in familial hypercholesterolemia patients with a mutated LDLR gene. **Genet Mol Biol**. 2018 Jul/Sept.;41(3):570-577.

Izar MCO, Giraldez VZR, Bertolami A, Santos Filho RDD, Lottenberg AM, Assad MHV, Saraiva JFK, Chacra APM, Martinez TLR, Bahia LR, Fonseca FAH, Faludi AA, Sposito AC, Chagas ACP, Jannes CE, Amaral CK, Araújo DB, Cintra DE, Coutinho EDR, Cesena F, Xavier HT, Mota ICP, Giuliano ICB, Faria Neto JR, Kato JT, Bertolami MC, Miname MH, Castelo MHCG, Lavrador MSF, Machado RM, Souza PG, Alves RJ, Machado VA, Salgado Filho W. Update of the Brazilian Guideline for Familial Hypercholesterolemia - 2021. **Arq Bras Cardiol**. 2021 Oct;117(4):782-844.

Jackson AS, Pollock ML. Practical Assessment of Body Composition. **Phys Sportsmed**. 1985 May;13(5):76-90.

James RW, Hochstrasser D, Tissot JD, Funk M, Appel R, Barja F, Pellegrini C, Muller AF, Pometta D. Protein heterogeneity of lipoprotein particles containing apolipoprotein A-I without apolipoprotein A-II and apolipoprotein A-I with apolipoprotein A-II isolated from human plasma. **J Lipid Res**. 1988 Dec;29(12):1557-71.

Jansen AC, Van Aalst-Cohen ES, Tanck MW, Trip MD, Lansberg PJ, Liem AH, Van Lennep HW, Sijbrands EJ, Kastelein JJ. The contribution of classical risk factors to cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: data in 2400 patients. **J Intern Med**. 2004; 256(6):482-90.

Kastelein JJP, Reeskamp LF, Hovingh GK. Familial Hypercholesterolemia: The Most Common Monogenic Disorder in Humans. **J Am Coll Cardiol**. 2020 May 26;75(20):2567-2569.

Kattoor AJ, Kanuri SH, Mehta JL. Role of Ox-LDL and LOX-1 in Atherogenesis. **Curr Med Chem**. 2019;26(9):1693-1700.

Khera AV, Won HH, Peloso GM, Lawson KS, Bartz TM, Deng X, van Leeuwen EM, Natarajan P, Emdin CA, Bick AG, Morrison AC, Brody JA, Gupta N, Nomura A, Kessler T, Duga S, Bis JC, van Duijn CM, Cupples LA, Psaty B, Rader DJ, Danesh J, Schunkert H, McPherson R, Farrall M, Watkins H, Lander E, Wilson JG, Correa A, Boerwinkle E, Merlini PA, Ardissino D, Saleheen D, Gabriel S, Kathiresan S. Diagnostic Yield and Clinical Utility

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

of Sequencing Familial Hypercholesterolemia Genes in Patients With Severe Hypercholesterolemia. **J Am Coll Cardiol**. 2016 Jun 7;67(22):2578-89.

Kunnen S, Van Eck M. Lecithin:cholesterol acyltransferase: old friend or foe in atherosclerosis? **J Lipid Res**. 2012 Sep;53(9):1783-99.

Langsted A, Kamstrup PR, Benn M, Tybjærg-Hansen A, Nordestgaard BG. High lipoprotein(a) as a possible cause of clinical familial hypercholesterolaemia: a prospective cohort study. **Lancet Diabetes Endocrinol**. 2016 Jul;4(7):577-87.

Libby P, Buring JE, Badimon L, Hansson GK, Deanfield J, Bittencourt MS, Tokgözoğlu L, Lewis EF. **Atherosclerosis**. Nat Rev Dis Primers. 2019 Aug 16;5(1):56.

Libby P, Pasterkamp G. Requiem for the 'vulnerable plaque'. **Eur Heart J**. 2015 Nov 14;36(43):2984-7.

Libby P. Inflammation and the pathogenesis of atherosclerosis. **Vascul Pharmacol**. 2023 Dec 28;154:107255.

Libby P. The changing landscape of atherosclerosis. **Nature**. 2021 Apr;592(7855):524-533.

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

Lin J, Kakkar V, Lu X. Impact of MCP-1 in atherosclerosis. **Curr Pharm Des**. 2014;20(28):4580-8.

Lincoff AM, Nicholls SJ, Riesmeyer JS, Barter PJ, Brewer HB, Fox KAA, Gibson CM, Granger C, Menon V, Montalescot G, Rader D, Tall AR, McErlean E, Wolski K, Ruotolo G, Vangerow B, Weerakkody G, Goodman SG, Conde D, McGuire DK, Nicolau JC, Leiva-Pons JL, Pesant Y, Li W, Kandath D, Kouz S, Tahirkheli N, Mason D, Nissen SE; ACCELERATE Investigators. Evacetrapib and Cardiovascular Outcomes in High-Risk Vascular Disease. **N Engl J Med**. 2017 May 18;376(20):1933-1942.

Lingenhel A, Kraft HG, Kotze M, Peeters AV, Kronenberg F, Kruse R, Utermann G. Concentrations of the atherogenic Lp(a) are elevated in FH. **Eur J Hum Genet**. 1998 Jan;6(1):50-60.

Liu MM, Peng J, Xu RX, Guo YL, Zhu CG, Wu NQ, Li JJ. Hypertension and clinical outcomes in patients with familial hypercholesterolemia. **J Hypertens**. 2022 Sep 1;40(9):1713-1721.

Lo Prete AC, Dina CH, Azevedo CE, Puk CG, Lopes ENH, Hueb WA, Maranhão RC. In vitro simultaneous transfer of lipids to HDL in coronary artery disease and in statin treatment. **Lipids**. 2009; 44(10):917-24.

Lohman T.G.; Roche, A. F.; Martorell, R. Anthropometric standardization Reference Manual. Champaign: **Human Kinetics Books**, 1988.

Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, Chapman MJ, De Backer GG, Delgado V, Ference BA, Graham IM, Halliday A, Landmesser U, Mihaylova B,

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

Pedersen TR, Riccardi G, Richter DJ, Sabatine MS, Taskinen MR, Tokgozoglu L, Wiklund O; ESC Scientific Document Group. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. **Eur Heart J**. 2020 Jan 1;41(1):111-188.

Mackey RH, Greenland P, Goff DC Jr, Lloyd-Jones D, Sibley CT, Mora S. High-density lipoprotein cholesterol and particle concentrations, carotid atherosclerosis, and coronary events: MESA (multi-ethnic study of atherosclerosis). **J Am Coll Cardiol**. 2012 Aug 7;60(6):508-16.

Mackness MI, Arrol S, Abbott C, Durrington PN. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. **Atherosclerosis**. 1993 Dec;104(1-2):129-35.

Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. **FEBS Lett**. 1991 Jul 29;286(1-2):152-4.

Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Extreme high high-density lipoprotein cholesterol is paradoxically associated with high mortality in men and women: two prospective cohort studies. **Eur Heart J**. 2017 Aug 21;38(32):2478-2486.

Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Novel Insights From Human Studies on the Role of High-Density Lipoprotein in Mortality and Noncardiovascular Disease. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 2021 Jan;41(1):128-140.

Mahmood SS, Levy D, Vasan RS, Wang TJ. The Framingham Heart Study and the epidemiology of cardiovascular disease: a historical perspective. **Lancet**. 2014 Mar 15;383(9921):999-1008.

Mangili LC, Miname MH, Silva PRS, Bittencourt MS, Rocha VZ, Mangili OC, Salgado Filho W, Chacra AP, Jannes CE, Pereira AC, Santos RD. Achilles tendon xanthomas are associated with the presence and burden of subclinical coronary atherosclerosis in heterozygous familial hypercholesterolemia: A pilot study. **Atherosclerosis**. 2017; 263:393-397.

Maranhão RC, Cesar TB, Pedroso-Mariani SR, Hirata M, Mesquita CH. Metabolic behavior in rats of a nonprotein microemulsion resembling low-density lipoprotein. **Lipids**.1993; 28(8): 691-6.

Maranhão RC, Freitas FR, Strunz CM, Santos RD, Mansur AJ, Mansur AP. Lipid transfers to HDL are predictors of precocious clinical coronary heart disease. **Clin Chim Acta**. 2012; 413(3-4):502-5.

Mariano C, Alves AC, Medeiros AM, Chora JR, Antunes M, Futema M, Humphries SE, Bourbon M. The familial hypercholesterolaemia phenotype: Monogenic familial hypercholesterolaemia, polygenic hypercholesterolaemia and other causes. **Clin Genet**. 2020 Mar;97(3):457-466.

Maric J, Kiss RS, Franklin V, Marcel YL. Intracellular lipidation of newly synthesized apolipoprotein A-I in primary murine hepatocytes. **J Biol Chem**. 2005 Dec 2;280(48):39942-9.

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

Márquez AB, Nazir S, van der Vorst EPC. High-Density Lipoprotein Modifications: A Pathological Consequence or Cause of Disease Progression? **Biomedicines**. 2020 Nov 28;8(12):549.

Martin SS, Jones SR, Toth PP. High-density lipoprotein subfractions: current views and clinical practice applications. **Trends Endocrinol Metab**. 2014 Jul;25(7):329-36.

Martinez LR, Santos RD, Miname MH, Deus DF, Lima ES, Maranhão RC. Transfer of lipids to high-density lipoprotein (HDL) is altered in patients with familial hypercholesterolemia. **Metabolism**. 2013; 62(8):1061-64.

Maurovich-Horvat P, Hoffmann U, Vorpahl M, Nakano M, Virmani R, Alkadhi H. The napkin-ring sign: CT signature of high-risk coronary plaques? **JACC Cardiovasc Imaging**. 2010 Apr;3(4):440-4.

McClelland RL, Chung H, Detrano R, Post W, Kronmal RA. Distribution of coronary artery calcium by race, gender, and age: results from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). **Circulation**. 2006;113(1):30-7

McGowan MP. There is no evidence for an increase in acute coronary syndromes after short-term abrupt discontinuation of statins in stable cardiac patients. **Circulation**. 2004 19; 110(16):2333-5.

Meijboom WB, Meijs MF, Schuijf JD, Cramer MJ, Mollet NR, van Mieghem CA, et al. Diagnostic accuracy of 64-slice computed tomography coronary angiography: a prospective, multicenter, multivendor study. **J Am Coll Cardiol**. 2008;52(25):2135-44.

Michel JB, Li Z, Lacolley P. Smooth muscle cells and vascular diseases. **Cardiovasc Res**. 2012 Jul 15;95(2):135-7.

Miller JM, Rochitte CE, Dewey M, Arbab-Zadeh A, Niinuma H, Gottlieb I, Paul N, Clouse ME, Shapiro EP, Hoe J, Lardo AC, Bush DE, de Roos A, Cox C, Brinker J, Lima JA. Diagnostic performance of coronary angiography by 64-row CT. **N Engl J Med**. 2008 Nov 27;359(22):2324-36.

Miname MH, Bittencourt MS, Moraes SR, Alves RIM, Silva PRS, Jannes CE, Pereira AC, Krieger JE, Nasir K, Santos RD. Coronary Artery Calcium and Cardiovascular Events in Patients With Familial Hypercholesterolemia Receiving Standard Lipid-Lowering Therapy. **JACC Cardiovasc Imaging**. 2019 Sep;12(9):1797-1804.

Mineo C, Deguchi H, Griffin JH, Shaul PW. Endothelial and antithrombotic actions of HDL. **Circ Res**. 2006 Jun 9;98(11):1352-64.

Mineo C, Shaul PW. Role of high-density lipoprotein and scavenger receptor B type I in the promotion of endothelial repair. **Trends Cardiovasc Med**. 2007 Jul;17(5):156-61.

Mineo C, Shaul PW. Regulation of eNOS in caveolae. **Adv Exp Med Biol**. 2012;729:51-62.

NamMoorjani S, Roy M, Torres A, Bétard C, Gagné C, Lambert M, Brun D, Davignon J, Lupien P. Mutations of low-density-lipoprotein-receptor gene, variation in plasma cholesterol,

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

and expression of coronary heart disease in homozygous familial hypercholesterolaemia. **Lancet**. 1993 May 22;341(8856):1303-6.

Natarajan P, Peloso GM, Zekavat SM, Montasser M, Ganna A, Chaffin M, Khera AV, Zhou W, Bloom JM, Engreitz JM, Ernst J, O'Connell JR, Ruotsalainen SE, Alver M, Manichaikul A, Johnson WC, Perry JA, Poterba T, Seed C, Surakka IL, Esko T, Ripatti S, Salomaa V, Correa A, Vasan RS, Kellis M, Neale BM, Lander ES, Abecasis G, Mitchell B, Rich SS, Wilson JG, Cupples LA, Rotter JI, Willer CJ, Kathiresan S; NHLBI TOPMed Lipids Working Group. Deep-coverage whole genome sequences and blood lipids among 16,324 individuals. **Nat Commun**. 2018 Aug 23;9(1):3391.

National Institutes of Health. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. NHI Publication No. 02-5215. U.S. Department of Health and Human Services; 2002.

Nauck M, Warnick GR, Rifai N. Methods for measurement of LDL-cholesterol: a critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. **Clin Chem**. 2002 Feb;48(2):236-54.

Navab M, Reddy ST, Van Lenten BJ, Fogelman AM. HDL and cardiovascular disease: atherogenic and atheroprotective mechanisms. **Nat Rev Cardiol**. 2011 Apr;8(4):222-32.

NCCPC - National Collaborating Centre for Primary Care (UK). Identification and Management of Familial Hypercholesterolaemia (FH) [Internet]. London: Royal College of General Practitioners (UK); 2008 Aug. [citado em 09 de setembro de 2023]. Disponível em: https://www.nice.org.uk/guidance/CG71

Neil HA, Hammond T, Mant D, Humphries SE. Effect of statin treatment for familial hypercholesterolaemia on life assurance: results of consecutive surveys in 1990 and 2002. **BMJ**. 2004 Feb 28;328(7438):500-1.

Nelson AJ, Sniderman AD, Ditmarsch M, Dicklin MR, Nicholls SJ, Davidson MH, Kastelein JJP. Cholesteryl Ester Transfer Protein Inhibition Reduces Major Adverse Cardiovascular Events by Lowering Apolipoprotein B Levels. **Int J Mol Sci**. 2022 Aug 20;23(16):9417.

Newman AB, Glynn NW, Taylor CA, Sebastiani P, Perls TT, Mayeux R, et al. Health and function of participants in the Long-Life Family Study: A comparison with other cohorts. **Aging (Albany NY)**. 2011 Jan;3(1):63-76.

Nicholls SJ, Ditmarsch M, Kastelein JJ, Rigby SP, Kling D, Curcio DL, Alp NJ, Davidson MH. Lipid lowering effects of the CETP inhibitor obicetrapib in combination with high-intensity statins: a randomized phase 2 trial. **Nat Med**. 2022 Aug;28(8):1672-1678.

Nicholls SJ, Tuzcu EM, Crowe T, Sipahi I, Schoenhagen P, Kapadia S, Hazen SL, Wun CC, Norton M, Ntanios F, Nissen SE. Relationship between cardiovascular risk factors and atherosclerotic disease burden measured by intravascular ultrasound. **J Am Coll Cardiol**. 2006 May 16;47(10):1967-75.

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

Nissen SE. Application of intravascular ultrasound to characterize coronary artery disease and assess the progression or regression of atherosclerosis. **Am J Cardiol**. 2002 Feb 21;89(4A):24B-31B.

Niu W, Qi Y. Circulating cholesteryl ester transfer protein and coronary heart disease: mendelian randomization meta-analysis. **Circ Cardiovasc Genet**. 2015 Feb;8(1):114-21.

Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, Wiklund O, Hegele RA, Raal FJ, Defesche JC, Wiegman A, Santos RD, Watts GF, Parhofer KG, Hovingh GK, Kovanen PT, Boileau C, Averna M, Borén J, Bruckert E, Catapano AL, Kuivenhoven JA, Pajukanta P, Ray K, Stalenhoef AF, Stroes E, Taskinen MR, Tybjærg-Hansen A. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society. **Eur Heart J**. 2013; 34(45):3478-90.

Onat A, Can G, Murat S, Ciçek G, Örnek E, Yüksel H. Aggregation of lipoprotein(a) to apolipoprotein A-I underlying HDL dysfunction as a major coronary risk factor. **Anadolu Kardiyol Derg**. 2013 Sep;13(6):543-51.

Ossoli A, Simonelli S, Vitali C, Franceschini G, Calabresi L. Role of LCAT in Atherosclerosis. **J Atheroscler Thromb**. 2016;23(2):119-27.

Paquette M, Genest J, Baass A. Familial hypercholesterolemia: experience from the French-Canadian population. **Curr Opin Lipidol**. 2018 Apr;29(2):59-64.

Patel PJ, Khera AV, Jafri K, Wilensky RL, Rader DJ. The anti-oxidative capacity of high-density lipoprotein is reduced in acute coronary syndrome but not in stable coronary artery disease. **J Am Coll Cardiol**. 2011 Nov 8;58(20):2068-75.

Pérez de Isla L, Alonso R, Mata N, Saltijeral A, Muñiz O, Rubio-Marin P, Diaz-Diaz JL, Fuentes F, de Andrés R, Zambón D, Galiana J, Piedecausa M, Aguado R, Mosquera D, Vidal JI, Ruiz E, Manjón L, Mauri M, Padró T, Miramontes JP, Mata P; SAFEHEART Investigators. Coronary Heart Disease, Peripheral Arterial Disease, and Stroke in Familial Hypercholesterolaemia: Insights From the SAFEHEART Registry (Spanish Familial Hypercholesterolaemia Cohort Study). **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 2016 Sep;36(9):2004-10.

Pérez de Isla L, Watts GF, Alonso R, Díaz-Díaz JL, Muñiz-Grijalvo O, Zambón D, Fuentes F, de Andrés R, Padró T, López-Miranda J, Mata P. Lipoprotein(a), LDL-cholesterol, and hypertension: predictors of the need for aortic valve replacement in familial hypercholesterolaemia. **Eur Heart J**. 2021 Jun 7;42(22):2201-2211.

Petranovic M, Soni A, Bezzera H, Loureiro R, Sarwar A, Raffel C, Pomerantsev E, Jang IK, Brady TJ, Achenbach S, Cury RC. Assessment of nonstenotic coronary lesions by 64-slice multidetector computed tomography in comparison to intravascular ultrasound: evaluation of nonculprit coronary lesions. **J Cardiovasc Comput Tomogr**. 2009 Jan-Feb;3(1):24-31.

Pirillo A, Catapano AL, Norata GD. Biological Consequences of Dysfunctional HDL. **Curr Med Chem**. 2019;26(9):1644-1664.

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

Puk CG, Bocchi EA, Lo Prete AC, Ferreira SM, Stolf NA, Maranhão RC. Transfer of cholesterol and other lipids from a lipid nanoemulsion to high-density lipoprotein in heart transplant patients. **J Heart Lung Transplant.** 2009; 28(10):1075-80.

Rader DJ, Hovingh GK. HDL and cardiovascular disease. **Lancet**. 2014 Aug 16;384(9943):618-625.

Rahilly-Tierney CR, Spiro A 3rd, Vokonas P, Gaziano JM. Relation between high-density lipoprotein cholesterol and survival to age 85 years in men (from the VA normative aging study). **Am J Cardiol**. 2011 Apr 15;107(8):1173-7.

Ray KK, Pillas D, Hadjiphilippou S, Khunti K, Seshasai SRK, Vallejo-Vaz AJ, Neasham D, Addison J. Premature morbidity and mortality associated with potentially undiagnosed familial hypercholesterolemia in the general population. **Am J Prev Cardiol**. 2023 Sep 6;15:100580.

Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. **Genet Med**. 2015 May;17(5):405-24.

Rocha VZ, Libby P. Obesity, inflammation, and atherosclerosis. **Nat Rev Cardiol**. 2009 Jun;6(6):399-409.

Rohatgi A, Khera A, Berry JD, Givens EG, Ayers CR, Wedin KE, Neeland IJ, Yuhanna IS, Rader DR, de Lemos JA, Shaul PW. HDL cholesterol efflux capacity and incident cardiovascular events. **N Engl J Med**. 2014 Dec 18;371(25):2383-93.

Rosenblat M, Vaya J, Shih D, Aviram M. Paraoxonase 1 (PON1) enhances HDL-mediated macrophage cholesterol efflux via the ABCA1 transporter in association with increased HDL binding to the cells: a possible role for lysophosphatidylcholine. **Atherosclerosis**. 2005 Mar;179(1):69-77.

Rosenson RS, Brewer HB Jr, Chapman MJ, Fazio S, Hussain MM, Kontush A, Krauss RM, Otvos JD, Remaley AT, Schaefer EJ. HDL measures, particle heterogeneity, proposed nomenclature, and relation to atherosclerotic cardiovascular events. **Clin Chem**. 2011 Mar;57(3):392-410.

Santos RD, Gagliardi AC, Xavier HT, Casella Filho A, Araújo DB, Cesena FY, Alves RJ; Sociedade Brasileira de Cardiologia; Pereira AC, Lottemberg AM, Chacra AP, Faludi AA, Sposito AC, Ribeiro Filho FF, Helfenstein Fonseca FA, de Carlos Back Giuliano I, Catani LH, Bertolami MC, Hiroshi Miname M, Izar MC, Monte O, Maranhão RC, Martinez TL, Arruda Machado V, Zorzanelli Rocha V, Salgado Filho W; Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar (HF) [First Brazilian Guidelines for Familial Hypercholesterolemia]. **Arq Bras Cardiol**. 2012 Aug;99(2 Suppl 2):1-28.

Santos RD, Gidding SS, Hegele RA, Cuchel MA, Barter PJ, Watts GF, Baum SJ, Catapano AL, Chapman MJ, Defesche JC, Folco E, Freiberger T, Genest J, Hovingh GK, Harada-Shiba

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

M, Humphries SE, Jackson AS, Mata P, Moriarty PM, Raal FJ, Al-Rasadi K, Ray KK, Reiner Z, Sijbrands EJ, Yamashita S. International Atherosclerosis Society Severe Familial Hypercholesterolemia Panel. Defining severe familial hypercholesterolaemia and the implications for clinical management: a consensus statement from the International Atherosclerosis Society Severe Familial Hypercholesterolemia Panel. **Lancet Diabetes Endocrinol**. 2016;4(10):850-61.

Santos RD, Hueb W, Oliveira AA, Ramires JA, Maranhão RC. Plasma kinetics of a cholesterol-richemulsion in subjects with or without coronary artery disease. **J Lipid Res**. 2003;44(3):464-9.

Santos RD. Screening and management of familial hypercholesterolemia. **Curr Opin Cardiol**. 2019 Sep;34(5):526-530.

Schulz KF, Grimes DA. Case-control studies: research in reverse. **Lancet**. 2002 Feb 2;359(9304):431-4.

Schwartz GG, Olsson AG, Abt M, Ballantyne CM, Barter PJ, Brumm J, Chaitman BR, Holme IM, Kallend D, Leiter LA, Leitersdorf E, McMurray JJ, Mundl H, Nicholls SJ, Shah PK, Tardif JC, Wright RS; dal-OUTCOMES Investigators. Effects of dalcetrapib in patients with a recent acute coronary syndrome. **N Engl J Med**. 2012 Nov 29;367(22):2089-99.

Segrest JP, Harvey SC, Zannis V. Detailed molecular model of apolipoprotein A-I on the surface of high-density lipoproteins and its functional implications. **Trends Cardiovasc Med**. 2000; 10(6):246-52.

Sentí M, Tomás M, Fitó M, Weinbrenner T, Covas MI, Sala J, Masiá R, Marrugat J.Antioxidant Paraoxonase 1 Activity in the Metabolic Syndrome. **J Clin Endocrinol Metab**. 2003; 88(11):5422-26.

Shapiro, S. S., Wilk, M. B. (1965). An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). **Biometrika**. 1965; 52(3/4): 591–611.

Sharrett AR, Ballantyne CM, Coady SA, Heiss G, Sorlie PD, Catellier D, Patsch W; Atherosclerosis Risk in Communities Study Group. Coronary heart disease prediction from lipoprotein cholesterol levels, triglycerides, lipoprotein(a), apolipoproteins A-I and B, and HDL density subfractions: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. **Circulation**. 2001 Sep 4;104(10):1108-13.

Shi J, Yang Y, Cheng A, Xu G, He F. Metabolism of vascular smooth muscle cells in vascular diseases. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**. 2020 Sep 1;319(3):H613-H631.

Silva PRS, Jannes CE, Oliveira TGM, Miname MH, Rocha VZ, Chacra AP, Gurgel MHC, Montenegro RM, Rodrigues Sobrinho CRM, Bello Moreira AS, Assad MHV, Pinto MRC, Tada MT, Santos RD, Pereira AC, Krieger JE. Evaluation of clinical and laboratory parameters used in the identification of index cases for genetic screening of familial hypercholesterolemia in Brazil. **Atherosclerosis**. 2017 Aug;263:257-262.

Smyth N, Ramsay M, Raal FJ. Population specific genetic heterogeneity of familial hypercholesterolemia in South Africa. **Curr Opin Lipidol**. 2018 Apr;29(2):72-79.

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

Sniderman AD, Tsimikas S, Fazio S. The severe hypercholesterolemia phenotype: clinical diagnosis, management, and emerging therapies. **J Am Coll Cardiol**. 2014 May 20;63(19):1935-47.

Sprandel MC, Hueb WA, Segre A, Ramires JA, Kalil-Filho R, Maranhão RC. Alterations in lipid transfers to HDL associated with the presence of coronary artery disease in patients with type 2 diabetes mellitus. **Cardiovasc Diabetol**. 2015; 14: 107-14.

Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. **N Engl J Med**. 1989 Apr 6;320(14):915-24.

Sturm AC, Knowles JW, Gidding SS, Ahmad ZS, Ahmed CD, Ballantyne CM, Baum SJ, Bourbon M, Carrié A, Cuchel M, de Ferranti SD, Defesche JC, Freiberger T, Hershberger RE, Hovingh GK, Karayan L, Kastelein JJP, Kindt I, Lane SR, Leigh SE, Linton MF, Mata P, Neal WA, Nordestgaard BG, Santos RD, Harada-Shiba M, Sijbrands EJ, Stitziel NO, Yamashita S, Wilemon KA, Ledbetter DH, Rader DJ; Convened by the Familial Hypercholesterolemia Foundation. Clinical Genetic Testing for Familial Hypercholesterolemia: JACC Scientific Expert Panel. **J Am Coll Cardiol**. 2018 Aug 7;72(6):662-680.

Tabet F, Vickers KC, Cuesta Torres LF, Wiese CB, Shoucri BM, Lambert G, Catherinet C, Prado-Lourenco L, Levin MG, Thacker S, Sethupathy P, Barter PJ, Remaley AT, Rye KA. HDL-transferred microRNA-223 regulates ICAM-1 expression in endothelial cells. **Nat Commun**. 2014 Feb 28;5:3292.

Tada H, Nohara A, Kawashiri MA. Monogenic, polygenic, and oligogenic familial hypercholesterolemia. **Curr Opin Lipidol**. 2019 Aug;30(4):300-306.

Tall AR, Sammett D, Vita GM, Deckelbaum R, Olivecrona T. Lipoprotein lipase enhances the cholesteryl ester transfer protein-mediated transfer of cholesteryl esters from high density lipoproteins to very low-density lipoproteins. **Biol Chem.** 1984; 259(15):9587-94.

Tall AR. An overview of reverse cholesterol transport. **Eur Heart J**. 1998 Feb;19 Suppl A:A31-5.

Talmud PJ, Shah S, Whittall R, Futema M, Howard P, Cooper JA, Harrison SC, Li K, Drenos F, Karpe F, Neil HA, Descamps OS, Langenberg C, Lench N, Kivimaki M, Whittaker J, Hingorani AD, Kumari M, Humphries SE. Use of low-density lipoprotein cholesterol gene score to distinguish patients with polygenic and monogenic familial hypercholesterolaemia: a case-control study. **Lancet**. 2013 Apr 13;381(9874):1293-301.

Trinder M, Paquette M, Cermakova L, Ban MR, Hegele RA, Baass A, Brunham LR. Polygenic Contribution to Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels and Cardiovascular Risk in Monogenic Familial Hypercholesterolemia. **Circ Genom Precis Med**. 2020 Oct;13(5):515-523.

Vaisberg M, Bachi AL, Latrilha C, Dioguardi GS, Bydlowski SP, Maranhão RC. Lipid transfer to HDL is higher in marathon runners than in sedentary subjects but is acutely inhibited during the run. **Lipids**. 2012;47(7):679-86.

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

Van Himbergen TM, Roest M, de Graaf J, Jansen EH, Hattori H, Kastelein JJ, Voorbij HA, Stalenhoef AF, van Tits LJ. Indications that paraoxonase-1 contributes to plasma high density lipoprotein levels in familial hypercholesterolemia. **J Lipid Res**. 2005 Mar;46(3):445-51.

Veronese N, Li Y, Manson JE, Willett WC, Fontana L, Hu FB. Combined associations of body weight and lifestyle factors with all cause and cause specific mortality in men and women: prospective cohort study. **BMJ**. 2016 Nov 24;355:i5855.

Versmissen J, Oosterveer DM, Yazdanpanah M, Defesche JC, Basart DC, Liem AH, Heeringa J, Witteman JC, Lansberg PJ, Kastelein JJ, Sijbrands EJ. Efficacy of statins in familial hypercholesterolaemia: a long term cohort study. **BMJ**. 2008 Nov 11;337:a2423.

Vetter TR. Fundamentals of Research Data and Variables: The Devil Is in the Details. **Anesth Analg**. 2017 Oct;125(4):1375-1380.

Vinagre JC, Vinagre CC, Pozzi FS, Zácari CZ, Maranhão RC. Plasma kinetics of chylomicron-like emulsion and lipid transfers to high-density lipoprotein (HDL) in lacto-ovo vegetarian and in omnivorous subjects. **Eur J Nutr**. 2014; 53(3):981-7.

Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, Carballo D, Koskinas KC, Bäck M, Benetos A, Biffi A, Boavida JM, Capodanno D, Cosyns B, Crawford C, Davos CH, Desormais I, Di Angelantonio E, Franco OH, Halvorsen S, Hobbs FDR, Hollander M, Jankowska EA, Michal M, Sacco S, Sattar N, Tokgozoglu L, Tonstad S, Tsioufis KP, van Dis I, van Gelder IC, Wanner C, Williams B; ESC National Cardiac Societies; ESC Scientific Document Group. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. **Eur Heart J**. 2021 Sep 7;42(34):3227-3337.

Voight BF, Peloso GM, Orho-Melander M, Frikke-Schmidt R, Barbalic M, Jensen MK, et al. Plasma HDL cholesterol and risk of myocardial infarction: a mendelian randomization study. **Lancet**. 2012 Aug 11;380(9841):572-80.

Von Eckardstein A, Nordestgaard BG, Remaley AT, Catapano AL. High-density lipoprotein revisited: biological functions and clinical relevance. **Eur Heart J**. 2023 Apr 21;44(16):1394-1407.

Walldius G, Jungner I, Holme I, Aastveit AH, Kolar W, Steiner E. High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. **Lancet.** 2001 Dec 15;358(9298):2026-33.

Walldius G, Jungner I. The apoB/apoA-I ratio: a strong, new risk factor for cardiovascular disease and a target for lipid-lowering therapy--a review of the evidence. **J Intern Med.** 2006 May;259(5):493-519.

Wang J, Dron JS, Ban MR, Robinson JF, McIntyre AD, Alazzam M, Zhao PJ, Dilliott AA, Cao H, Huff MW, Rhainds D, Low-Kam C, Dubé MP, Lettre G, Tardif JC, Hegele RA. Polygenic Versus Monogenic Causes of Hypercholesterolemia Ascertained Clinically. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 2016 Dec;36(12):2439-2445.

Watts GF, Gidding SS, Hegele RA, Raal FJ, Sturm AC, Jones LK, Sarkies MN, Al-Rasadi K, Blom DJ, Daccord M, de Ferranti SD, Folco E, Libby P, Mata P, Nawawi HM, Ramaswami U, Ray KK, Stefanutti C, Yamashita S, Pang J, Thompson GR, Santos RD. International

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

Atherosclerosis Society guidance for implementing best practice in the care of familial hypercholesterolaemia. Nat Rev Cardiol. 2023 Jun 15.

Watts GF, Jones LK, Sarkies MN, Pang J, Gidding SS, Libby P, Santos RD. International Atherosclerosis Society Roadmap for Familial Hypercholesterolaemia. **Glob Heart**. 2024 Jan 25;19(1):12.

WHO. World Health Organization. Familial hypercholesterolemia. Report of a second WHO Consultation. Genèva: **WHO**, 1999. Publication no. WHO/HGN/FH/CONS/99.2.

WHO. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. Genève: **WHO**. Technical report series, n.894. 1998.

WHO. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. Genève: **WHO**. Technical report series, n.854. 1995.

Xavier H. T., Izar M. C., Faria Neto J. R., Assad M. H., Rocha V. Z., Sposito A. C., Fonseca F. A., dos Santos J. E., Santos R. D., Bertolami M. C., Faludi A. A., Martinez T. L. R., Diament J., Guimarães A., Forti N. A., Moriguchi E., Chagas A. C. P., Coelho O. R., Ramires J. A. F.; Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Arq Bras Cardiol 2013.

Xu RX, Li S, Li XL, Zhang Y, Guo YL, Zhu CG, Wu NQ, Qing P, Sun J, Dong Q, Li JJ. High-density lipoprotein subfractions in relation with the severity of coronary artery disease: A Gensini score assessment. J Clin Lipidol. 2015 Jan-Feb;9(1):26-34.

Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, Lisheng L; INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. **Lancet.** 2004 Sep 11-17;364(9438):937-52.

Zanoni P, Velagapudi S, Yalcinkaya M, Rohrer L, von Eckardstein A. Endocytosis of lipoproteins. **Atherosclerosis**. 2018 Aug;275:273-295.

Zhang Y, Dron JS, Bellows BK, Khera AV, Liu J, Balte PP, Oelsner EC, Amr SS, Lebo MS, Nagy A, Peloso GM, Natarajan P, Rotter JI, Willer C, Boerwinkle E, Ballantyne CM, Lutsey PL, Fornage M, Lloyd-Jones DM, Hou L, Psaty BM, Bis JC, Floyd JS, Vasan RS, Heard-Costa NL, Carson AP, Hall ME, Rich SS, Guo X, Kazi DS, de Ferranti SD, Moran AE. Familial Hypercholesterolemia Variant and Cardiovascular Risk in Individuals With Elevated Cholesterol. **JAMA Cardiol**. 2024 Jan 31:e235366.

Zhang Y, Zhu CG, Xu RX, Li S, Li XL, Guo YL, Wu NQ, Gao Y, Qing P, Cui CJ, Sun J, Li JJ. HDL subfractions and very early CAD: novel findings from untreated patients in a Chinese cohort. **Sci Rep**. 2016 Aug 4;6:30741.

[1]De acordo com o Estilo Vancouver

ANEXOS

ANEXO A – Parecer Consubstanciado do CEP

USP - HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Aspectos metabólicos e funcionais da lipoproteína de alta densidade (HDL) em pacientes com hipercolesterolemia familiar e doença arterial coronária subclínica

Pesquisador: Raul Cavalcante Maranhão

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 01398918.7.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.008.879

Apresentação do Projeto:

A proposta intitulada: "Aspectos metabólicos e funcionais da lipoproteína de alta densidade (HDL) em pacientes com hipercolesterolemia familiar e doença arterial coronária subclínica" é um projeto para ingresso no doutorado a ser desenvolvido como parte integrante de um Projeto Temático FAPESP Processo: 2014/03742-0 no Instituto do Coração do Hospital das Clínicas-FMUSP. Vinte e dois indivíduos adultos de ambos os sexos com hipercolesterolemia familiar heterozigótica e lesões ateroscleróticas documentadas por angiotomografia de coronárias e 22 indivíduos adultos de ambos sexos com hipercolesterolemia familiar heterozigótica sem lesões ateroscleróticas participarão do estudo. Amostras de sangue dos pacientes serão coletadas, após a suspensão de medicamentos hipolipemiantes por 30 dias. O estado nutricional será avaliado por medidas antropométricas e pelo IMC.

Objetivo da Pesquisa:

Este projeto de pesquisa tem como objetivo avaliar a transferência de lipídes para a HDL, um importante aspecto do metabolismo desta lipoproteína, e outros aspectos funcionais e composicionais da HDL em pacientes com hipercolesterolemia familiar com ou sem presença de lesões ateroscleróticas coronarianas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Apesar de constar nas informações básicas do projeto "não se aplica" tanto em riscos quanto em

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.edm@hc.fm.usp.br

benefícios, no TCLE ambos os itens estão adequadamente descritos, a saber:
Riscos: Consta no texto: "Para a coleta de sangue, é necessário que você esteja de jejum 12 horas. O exame não causa nenhum efeito nocivo à saúde. O que o (a) senhor (a) poderá eventualmente sentir será um pouco de dor e formação de um pequeno hematoma (roxo) por ocasião da coleta do sangue, como pode ocorrer em qualquer coleta para exames de sangue por punção da veia, e que se desfaz naturalmente em poucos dias".
Benefícios: Os autores referem no texto: "Não há benefício direto para o(a) senhor(a). Trata-se de estudo experimental para investigar como as lipoproteínas podem alterar-se na presença ou não da doença arterial coronária em pacientes com hipercolesterolemia familiar. Somente no final do estudo, poderemos concluir a presença de algum benefício, como por exemplo, se estas alterações podem beneficiar a prevenção de doenças cardíacas".

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:
O estudo apresenta relevância clínica, social e científica e os resultados poderão contribuir com a área.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:
Todos os documentos necessários foram anexados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:
O estudo apresenta relevância clínica, social e científica, está bem estruturado e os resultados poderão contribuir com a área. Não observei nenhum impedimento para a realização da pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:
Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c)apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação

Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1189311.pdf	17/10/2018 15:03:54		Aceito
Outros	Termo_de_outorga.pdf	17/10/2018 14:39:44	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Fabiana_Juliani_TCLE.doc	17/10/2018 14:39:19	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	Fabiana_Juliani_cronograma.doc	17/10/2018 14:39:07	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Fabiana_Juliani_projeto.doc	17/10/2018 13:24:38	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	Fabiana_Juliani_orcamento_1.doc	17/10/2018 13:21:45	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	SGP_ASSINADO.pdf	17/10/2018 13:20:52	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Folha de Rosto	FR_PB_ASSINADA.pdf	17/10/2018 13:20:32	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

SAO PAULO, 08 de Novembro de 2018

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador(a))

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – HCFMUSP

DADOS SOBRE A PESQUISA

Título da pesquisa – "*Aspectos metabólicos e funcionais da lipoproteína de alta densidade (HDL) em pacientes com hipercolesterolemia familiar e doença arterial coronária subclínica*"

Pesquisador principal – Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão

Departamento/Instituto – Laboratório de Metabolismo e Lípides do Instituto do Coração – HCFMUSP

Estamos convidando o senhor (a) a participar como voluntário (a) da nossa pesquisa intitulada "Aspectos metabólicos e funcionais da lipoproteína de alta densidade (HDL) em pacientes com hipercolesterolemia familiar e doença arterial coronária subclínica".

Esse estudo irá avaliar como está o perfil lipídico de pacientes com hipercolesterolemia familiar com doença arterial coronária. A hipercolesterolemia familiar é uma doença genética grave que causa um aumento dos níveis do colesterol da LDL (lipoproteína de baixa densidade). Vários estudos mostram que este colesterol pode se depositar nas paredes dos vasos sanguíneos e formar placas de gordura e, dessa maneira, se tornar um fator de risco para o desenvolvimento de doenças do coração. Portanto, a hipercolesterolemia familiar implica em risco aumentado para doença arterial coronária precoce.

Qualquer tratamento clínico que você esteja realizando, como uso de medicamentos, não será suspenso para a realização da pesquisa, exceto o uso de estatina. O senhor(a) será orientado(a) a suspender a estatina por um período de

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável_____

Rubrica do pesquisador_____

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

30 dias para a realização dos exames. A suspensão desse remédio pelo período de um mês não causará prejuízo à sua saúde.

Para a coleta de sangue, é necessário que você esteja de jejum 12 horas. O exame não causa nenhum efeito nocivo à saúde. O que o (a) senhor (a) poderá eventualmente sentir será um pouco de dor e formação de um pequeno hematoma (roxo) por ocasião da coleta do sangue, como pode ocorrer em qualquer coleta para exames de sangue por punção da veia, e que se desfaz naturalmente em poucos dias.

Não há benefício direto para o(a) senhor(a). Trata-se de estudo experimental para investigar como as lipoproteínas podem alterar-se na presença ou não da doença arterial coronária em pacientes com hipercolesterolemia familiar. Somente no final do estudo, poderemos concluir a presença de algum benefício, como por exemplo, se estas alterações podem beneficiar a prevenção de doenças cardíacas.

O (a) senhor(a) poderá retirar o consentimento a qualquer momento, sendo assim, este documento foi feito em duas vias de igual teor e uma será entregue ao senhor(a). Ademais, esclareço por meio desta que o material coletado será utilizado única e exclusivamente para esta pesquisa.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de dúvidas. O principal investigador é o Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão que pode ser encontrado no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44 - Pinheiros, São Paulo - SP, 05403-900, Telefone 2661-5108 e-mail ramarans@usp.br. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável_____

Rubrica do pesquisador_____

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (11) 2661-7585, (11) 2661-1548, (11) 2661-1549; e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br.

Fui suficientemente informado a respeito do estudo

Eu discuti as informações acima com o Pesquisador Responsável Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim os objetivos, os procedimentos, os potenciais desconfortos e riscos e as garantias. Concordo voluntariamente em participar deste estudo assino este termo de consentimento e recebo uma via rubricada pelo pesquisador.

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável_____

Rubrica do pesquisador_____

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Assinatura do participante/representante legal

Data ____/_____/_____

Assinatura do responsável pelo estudo

Data _____/_____/_____

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME: .....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: ..... SEXO: M □ F □

DATA NASCIMENTO: ...../...../.....

ENDEREÇO.....

..... Nº ..... APTO: .....

BAIRRO:.....CIDADE:.....

CEP:.....TELEFONE:DDD(.....).....

2.RESPONSÁVEL LEGAL.....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE:.....SEXO: M □ F □

DATA NASCIMENTO.: ...../...../.....

ENDEREÇO:.....

.....Nº ..... APTO: .....

BAIRRO:.....CIDADE.....

CEP:.....TELEFONE: DDD(.....).....

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável_____

Rubrica do pesquisador_____

ANEXO C – Estimativa de porcentagem de gordura corporal com base na somatória das quatro dobras cutâneas (bicipital, tricipital, subescapular e supra-ilíaca).

Soma das dobras (mm)	Homens (Idade em anos)				Mulheres (Idade em anos)			
	17-29	30-39	40-49	50+	16-29	30-39	40-49	50+
15	4,8				10,5			
20	8,1	12,2	12,2	12,6	14,1	17,0	19,8	21,4
25	10,5	14,2	15,0	15,6	16,8	19,4	22,2	24,0
30	12,9	16,2	17,7	18,6	19,5	21,8	24,5	26,6
35	14,7	17,7	19,6	20,8	21,5	23,7	26,4	28,5
40	16,4	19,2	21,4	22,9	23,4	25,5	28,2	30,3
45	17,7	20,4	23,0	24,7	25,0	26,9	29,6	31,9
50	19,0	21,5	24,6	26,5	26,5	28,2	31,0	33,4
55	20,1	22,5	25,9	27,9	27,8	29,4	32,1	34,6
60	21,2	23,5	27,1	29,2	29,1	30,6	33,2	35,7
65	22,2	24,3	28,2	30,4	30,2	31,6	34,1	36,7
70	23,1	25,1	29,3	31,6	31,2	32,5	35,0	37,7
75	24,0	25,9	30,3	32,7	32,2	33,4	35,9	38,7
80	24,8	26,6	31,2	33,8	33,1	34,3	36,7	39,6
85	25,5	27,2	32,1	34,8	34,0	35,1	37,5	40,4
90	26,2	27,8	33,0	35,8	34,8	35,8	38,3	41,2
95	26,9	28,4	33,7	36,6	35,6	36,5	39,0	41,9
100	27,6	29,0	34,4	37,4	36,4	37,2	39,7	42,6
105	28,2	29,6	35,1	38,2	37,1	37,9	40,4	43,3
110	28,8	30,1	35,8	39,0	37,8	38,6	41,0	43,9
115	29,4	30,6	36,4	39,7	38,4	39,1	41,5	44,5
120	30,0	31,1	37,0	40,4	39,0	39,6	42,0	45,1
125	31,0	31,5	37,6	41,1	39,6	40,1	42,5	45,7
130	31,5	31,9	38,2	41,8	40,2	40,6	43,0	46,2
135	32,0	32,3	38,7	42,4	40,8	41,1	43,5	46,7
140	32,5	32,7	39,2	43,0	41,3	41,6	44,0	47,2
145	32,9	33,1	39,7	43,6	41,8	42,1	44,5	47,7
150	33,3	33,5	40,2	44,1	42,3	42,6	45,0	48,2
155	33,7	33,9	40,7	44,6	42,8	43,1	45,4	48,7
160	34,1	34,3	41,2	45,1	43,3	43,6	45,8	49,2
165	34,5	34,6	41,6	45,6	43,7	44,0	46,2	49,6
170	34,9	34,8	42,0	46,1	44,1	44,4	46,6	50,0
175	35,3					44,8	47,0	50,4
180	35,6					45,2	47,4	50,8
185	35,9					45,6	47,8	51,2
190						45,9	48,2	51,6
195						46,2	48,5	52,0
200						46,5	48,8	52,4
205							49,1	52,7
210							49,4	53,0

Fonte: DURNIN & WOMERSLEY,1974.

ANEXO D - Associação univariada relacionada à doença arterial coronária (DAC) subclínica em pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF) heterozigótica

Variáveis	*OR*	*IC 95%*	*p*
Rastreamento genético	0,68	0,19 – 2,50	0,562
Tratamento hipolipemiante prévio	0,59	0,19 – 1,74	0,336
DAC precoce na família	**3,80**	**1,21 – 11,90**	**0,022**
Sinais patognomônicos da HF	**3,33**	**1,05 – 10,60**	**0,041**
HAS	1,87	0,59 – 5,94	0,291
PAS (mmHg)	**1,05**	**1,01 – 1,09**	**0,021**
PAD (mmHg)	1,02	0,97 – 1,08	0,366
Diabetes mellitus 2	0,60	0,05 – 7,63	0,694
Glicemia (mg/dL)	1,01	0,99 – 1,03	0,511
HbA1c (%)	1,22	0,70 – 2,14	0,484
Síndrome metabólica	2,92	0,93 – 9,23	0,067
IMC (Kg/m^2)	1,06	0,96 – 1,17	0,267
CC (cm)	1,02	0,98 – 1,07	0,307
Gordura corporal (%)	0,98	0,91 – 1,07	0,697
Ex-tabagista	1,92	0,49 – 7,57	0,349
PCR-us (mg/L)	1,11	0,85 – 1,46	0,435
CT (mg/dL)	1,01	1,00 – 1,02	0,103
LDL-c mg/dL)	1,01	1,00 – 1,01	0,222
Não-HDL-c (mg/dL)	1,01	1,00 – 1,02	0,115
HDL-c (mg/dL)	1,00	0,96 – 1,05	0,844
Triglicérides (mg/dL)	1,00	1,00 – 1,01	0,153
Apo A-I (g/L)	0,46	0,06 – 3,54	0,459
Apo B (g/L)	2,38	0,57 – 9,95	0,233
Relação Apo B/Apo A-I	2,64	0,64 – 10,90	0,181
Lp(a) (mg/dL)	1,01	0,99 – 1,03	0,435
CETP (µg/mL)	4,35	0,48 – 39,70	0,192
LCAT (µg/mL)	1,41	0,01 – 363,00	0,904
Transferência de CL (%)	1,55	0,72 – 3,31	0,260
Transferência de CE (%)	1,46	0,65 – 3,28	0,361
Lag time (min)	1,01	0,95 – 1,07	0,834
Vmax (mili/unid/min)	0,84	0,35 – 1,97	0,682
Tmax (min)	1,01	0,97 – 1,05	0,610
DOmax	0,09	0,00 – 56300,00	0,730
AUC	0,99	0,94 – 1,05	0,846
PON1(U/L)	0,99	0,98 – 1,00	0,073
Diâmetro HDL (nm)	1,06	0,27 – 4,16	0,993
HDLgrande mg/dL)	0,97	0,90 – 1,05	0,513
HDL intermediária (mg/dL)	1,04	0,95 – 1,13	0,420
HDL pequena (mg/dL)	1,03	0,92 – 1,15	0,644

Legenda: HAS: hipertensão arterial sistêmica; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; HbA1c: hemoglobina glicada; IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; PCR-us: PCR ultrassensível; CT: colesterol total; LDL-c: colesterol da lipoproteína de baixa densidade; HDL-c: colesterol da lipoproteína de alta densidade; Apo: apolipoproteína; Lp(a): lipoproteína(a); CETP: proteína de transferência de colesterol esterificado; LCAT: lecitina-colesterol aciltransferase; CL: colesterol livre; CE: colesterol esterificado; Lag time: início da produção de dienos conjugados; Vmax: taxa de velocidade máxima de peroxidação lipídica; Tmax: tempo para produção máxima de dienos conjugados; DOmax: pico de produção máxima de dienos conjugados; AUC: área sob a curva; PON1: paraoxonase 1; OR: *Odds Ratio*; IC: intervalo de confiança. Análise univariada realizada com base no modelo de regressão logística para um estudo caso-controle.