

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS E
TOXICOLÓGICAS**

DANIELLE BASQUES SERENINI

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE LIPOPROTEÍNA (a) E SUA RELAÇÃO
COM PARÂMETROS HEMOSTÁTICOS EM MULHERES JOVENS E
NA PÓS-MENOPAUSA**

Belo Horizonte - MG

2016

DANIELLE BASQUES SERENINI

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE LIPOPROTEÍNA (a) E SUA RELAÇÃO COM
PARÂMETROS HEMOSTÁTICOS EM MULHERES JOVENS E NA PÓS-
MENOPAUSA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial, para obtenção do título de mestre em Análises Clínicas e Toxicológicas, submetida.

Área de concentração: Bioquímica e Hematologia.

Orientadora: Profa. Dra. Iêda de Fátima Oliveira Silva – UFMG

Coorientadora: Profa. Dra. Maria das Graças Carvalho - UFMG

Belo Horizonte – MG

2016

S483a Serenini, Danielle Basques.
Avaliação dos níveis de lipoproteína (a) e sua relação com parâmetros hemostáticos em mulheres jovens e na pós-menopausa / Danielle Basques Serenini. – 2016.
98 f. : il.

Orientadora: Iêda de Fátima Oliveira Silva.
Co-orientadora: Maria das Graças Carvalho.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas.

1. Hematologia – Teses. 2. Lipoproteínas – Teses. 3. Hormônios – Teses. 4. Hemostase – Teses. 5. Pós-menopausa – Teses. I. Silva, Iêda de Fátima Oliveira. II. Carvalho, Maria das Graças. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD:616.15



FOLHA DE APROVAÇÃO

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE LIPOPROTEÍNA (a) E SUA RELAÇÃO
COM PARÂMETROS HEMOSTÁTICOS EM MULHERES JOVENS E
NA PÓS-MENOPAUSA**

DANIELLE BASQUES SERENINI

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS, área de concentração ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS.

Aprovada em 15 de junho de 2016, pela banca constituída pelos membros:


Prof(a). Sida de Fátima Oliveira Silva - Orientador
UFMG


Prof(a). Maria das Graças Carvalho
Faculdade de Farmácia da UFMG


Prof(a). Ana Paula Lucas Mota
UFMG


Prof(a). Edna Afonso Reis
UFMG

Belo Horizonte, 15 de junho de 2016.

Dedico este trabalho:
À Deus por me abençoar todos os dias.
Aos meus pais pelo amor incondicional e suporte.
Ao meu esposo por todo incentivo e companheirismo.
À Manuela e Rafaela por tudo que representam em minha vida.
Às Profas. Iêda, Maria das Graças e Cláudia pelos grandes ensinamentos.

AGRADECIMENTOS

À Deus por me abençoar a cada dia.

Aos meus pais Ronaldo e Rosângela pelo amor incondicional. Agradeço por nunca medirem esforços para que eu realizasse meus sonhos, especialmente pelo cuidado e carinho com minha filha Manuela nos dias em que estive ausente.

Ao meu esposo Bruno pelo companheirismo e incentivo nesses anos de convivência, especialmente pela dedicação e esforço para proporcionar todo suporte necessário para realização desse sonho.

À Profa. Dra. Iêda de Fátima Oliveira Silva por todos os ensinamentos, paciência e orientações.

À Profa. Dra. Maria das Graças Carvalho por todos os ensinamentos, cuidado e por ser exemplo a ser seguido.

À Profa. Dra. Cláudia Natália Ferreira pela disposição em colaborar com as coletas e experimentos, pela atenção e dedicação e ainda por tornar possível a participação do projeto no congresso.

À Profa. Dra. Ana Paula Lucas Mota pela disposição em colaborar com os experimentos, pelo incentivo e apoio.

À Profa. Dra. Luci Maria Sant'Ana Dusse pela colaboração com os reagentes, pela atenção e disponibilidade.

À Profa. Dra. Karina Braga Gomes por ser exemplo de dedicação e doçura e também por possibilitar a apresentação do projeto no congresso.

À amiga Simone Martins Gonçalves por ser exemplo, por toda ajuda atenção e disponibilidade.

Ao amigo Rodrigo Pestana pelo companheirismo e todas as conversas.

Ao colega Gustavo pela parceria nos experimentos.

Aos funcionários do laboratório Antônio e Vicente por toda dedicação e colaboração nos experimentos e nas coletas.

Ao bioquímico Orildo dos Santos Pereira pelo apoio nas coletas em seu laboratório.

Às voluntárias pela disponibilidade, atenção e colaboração.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram para que este trabalho fosse concluído.

RESUMO

A lipoproteína (a) é uma molécula com composição semelhante à LDL, um fator de risco independente para doenças cardiovasculares por favorecer a aterogênese. Apresenta homologia estrutural com o plasminogênio, podendo contribuir com a trombogênese por redução na fibrinólise. Eventos aterotrombóticos podem estar associados à genética, condições fisiológicas, tabagismo, hábitos de vida, interferência dos hormônios e idade. O uso de hormônios, em contraceptivos e terapia de reposição hormonal (TRH), pode interferir na hemostasia, favorecendo a hipercoagulabilidade e, conseqüentemente, somar à significância dos níveis elevados de Lp(a). Neste estudo, buscou-se avaliar o perfil lipídico, com ênfase na Lp(a) e sua relação com parâmetros hemostáticos em mulheres jovens e na pós-menopausa, em uso ou não de hormônios. Foram incluídas 82 mulheres, distribuídas em quatro grupos: jovens em uso de contraceptivo oral (JP,n=20), ou não (JN,n=20), e menopausadas em uso de TRH (MP,n=17) ou não (MN,n=25). Foram determinados os níveis de colesterol total, triglicérides e glicose por método colorimétrico-enzimático, enquanto o HDL foi determinado por método direto, e LDL e VLDL pela equação de *Friedwald*. Os níveis de Lp(a), apoA-I, apoB e PCRus foram determinados por turbidimetria, PAI-1, F1+2 e plasminogênio por ELISA e o D-Di por ELFA. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa MINITAB, versão 15.0, utilizando o teste de Mann-Whitney na comparação das medianas dos pares de grupos: JNxJP, MNxMP e JNxMN. O coeficiente de Pearson foi calculado entre todas as variáveis do estudo para cada grupo e também unindo-os em único grupo. Diferenças significativas foram observadas nas concentrações de CT entre os grupos JN x JP, MN x MP e JN x MN; de HDLc entre JN x MN; de LDLc entre MN x MP e JN x MN. Para VLDLc e TG, foram observadas diferenças entre JN x JP e JN x MN, enquanto para as apoA-I e apoB, entre JN x JP e JN x MN. Para o F1+2, diferenças significativas entre JN x JP. Entre JN x MN, todos os marcadores hemostáticos foram diferentes, incluindo o D-Di. Para o Plasminogênio, todos os grupos foram diferentes, exceto MN x MP; enquanto para a PCRus, entre os grupos JN x JP e entre JN x MN, e para a glicose, entre JN x MN. Para o Índice de Castelli II, diferenças significativas foram observadas entre os grupos MN x MP e JN x MN; Correlações lineares fortes foram observadas entre as variáveis F1+2 x TG e F1+2 x VLDL no grupo JN; e entre apoB x CT, e apoB x LDL no grupo MN. Uma análise

conjunta dos dados dos perfis lipídico e hemostático permitiu concluir que os níveis de Lp(a) não influenciaram os dados do sistema fibrinolítico e nem sofreram alteração em função do uso de hormônios ou da idade. Com base ainda nos dados, é possível inferir que com o uso de contraceptivo oral parece ocorrer uma tendência aterogênica e trombogênica; enquanto o uso de TRH parece ser protetora no processo de aterogênese, porém não influenciou significativamente a trombogênese. Finalmente, o avanço da idade por si só, contribuiu significativamente para os potenciais aterogênico e trombogênico, conforme esperado.

Palavras Chave: Lipoproteína(a); hormônios; hemostasia; pós-menopausa; aterogênese e trombogênese.

ABSTRACT

Lipoprotein (a) is a molecule with composition similar to LDL, an independent risk factor for cardiovascular disease by promoting atherogenesis. It presents structural homology with plasminogen and may contribute to thrombogenesis by reduced fibrinolysis. Atherothrombotic events may be associated with genetic, physiological conditions, smoking, lifestyle, interference of hormones and age. The use of hormones for contraception and hormonal reposition (HRT) therapy may interfere with hemostasis promoting hypercoagulability and consequently adding to the significance of elevated levels of Lp(a). We sought to evaluate the lipid profile, with emphasis on Lp(a) and its relationship with hemostatic parameters in both young and postmenopausal women, in use or not of hormones. We included 82 women distributed into four groups: young women using oral contraceptive (JP/n=20) or not (JN/n=20) and menopausal women under HRT use (MP/n=17) or not (MN/n=25). Total cholesterol (TC), triglycerides, and glucose levels were determined by colorimetric-enzymatic method, while HDL by direct method. LDL and VLDL were determined by using Friedewald equation, while Lp(a), apoA1, apoB and hsCRP by turbidimetry. PAI-1, F1+2 and plasminogen were measured by ELISA and the DiD by ELFA. Statistical analyzes were performed by MINITAB version 15.0 using the Mann-Whitney test for comparing the medians of groups of pairs: JNxJP, MNxMP and JNxMN. Correlations among all variables were calculated by Pearson's correlation. Significant differences were observed for CT concentrations between JN x JP, MN x MP and JN x MN; for HDLc between JN x MN; for LDLc between MN x MP and JN x MN groups. For VLDLc and TG, differences were observed between JN x JP and JN x MN, while for apoAI and apoB between JN x JP and JN x MN groups. For F1 + 2, differences were obtained between JP x JN. For the JN x MN group, all hemostatic markers were different including DiD. For plasminogen, all groups were different, except MN x MP; while for hsCRP, between JN xJP, and between JN x MN groups; and for glucose between JN x MN. For Castelli Index II, significant differences were observed between the MN x MP and JN x MN groups. Strong correlations were observed between the variables F1 + 2 x TG and between F1 + 2 x VLDL in JN group; and between apoB x CT, apoB x LDL in MN group. A joint analysis of data from lipid and hemostatic profiles shows that levels of Lp(a) did not influence the fibrinolytic system performance and they have not been changed due to the use of hormones or age. Based on the same data, one can infer that the use of oral contraceptive seems to be atherogenic and thrombogenic; while the use of HRT seems to protect the process of atherogenesis, but did not significantly influence thrombogenesis. Finally, the advance age factor by itself has contributed significantly to the atherogenic and thrombogenic potential, as expected.

Key words: Lipoprotein(a), hormones, hemostasis, post-menopause, atherogenesis and thrombogenesis.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Modelo da cascata de coagulação proposto em 1960** 33
- Figura 2 – Modelo da cascata de coagulação baseada em superfícies celulares** 34
- Figura 3 – TRH e sistema anticoagulante natural em mulheres com alto risco para TVP** 41
- Figura 4 – Representação esquemática do grau de ativação da coagulação e fibrinólise induzido por CO de gerações diferentes** 42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultados do perfil lipídico, em mg/dL, dos marcadores bioquímicos CT, HDL, LDL, VLDL e TG	55
Tabela 2 – Resultados do perfil lipídico complementar (mg/dL) para os marcadores bioquímicos Lp(a), apoA1 e apoB	56
Tabela 3 – Resultados dos marcadores hemostáticos: PAI-1, F1+2, Di D e Plasminogênio	56
Tabela 4 – Resultados da PCRus, mg/L	57
Tabela 5 – Resultados do Índice de Castelli II e demais relações	57
Tabela 6 – Resultados dos Coeficientes de correlação linear de Pearson, $r \geq 0,8$ e $p < 0,02$	58
Tabela 7 – Percentual (%) de participantes com resultados fora do valor de referência para os parâmetros lipídicos e hemostáticos analisados	58
Tabela 8 – Resultados da glicose sérica em mg/L	59
Tabela 9 – Valores de referência segundo as bulas dos kits diagnósticos dos respectivos fabricantes	89
Tabela 10 – Número de participantes que utilizavam cada uma das formulações de COs	90
Tabela 11 – Caracterização clínica das participantes	91
Tabela 12 – Resumo dos achados na literatura para o perfil lipídico	95
Tabela 13 – Resumo dos achados na literatura para os marcadores hemostáticos	96
Tabela 14 – Resumo dos achados na literatura para glicose e PCRus	97
Tabela 15 – Resumo dos achados na literatura para o índice de Castelli II	98

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A – Parecer do comitê de ética em pesquisa da UFMG	83
ANEXO B – Termo de consentimento livre e esclarecido	84
ANEXO C – Ficha clínica da participante	87
ANEXO D – Valores de referência dos marcadores estudados	89
ANEXO E – Número de participantes que utilizavam cada uma das formulações de COs	90
ANEXO F – Caracterização clínica das participantes	91
ANEXO G – Resumo dos achados na literatura para o perfil lipídico	95
ANEXO H – Resumo dos achados na literatura para os marcadores hemostáticos	96
ANEXO I – Resumo dos achados na literatura para glicose e PCRus	97
ANEXO J – Resumo dos achados na literatura para o índice de Castelli II	98

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
*	Significativo
<	Menor que
=	Igual
≠	Diferente
>	Maior que
≤	Menor ou igual
≥	Maior ou igual
®	Marca registrada
μL	Microlitros
ACAT	Acetilcolesterol acetiltransferase
Acetil-CoA	Acetil coenzima A
AG	Ácido graxo
AGs	Ácidos graxos
apoA	Apolipoproteína A
apoB	Apolipoproteína B
apoB 100	Apolipoproteína B100
apoC	Apolipoproteína C
apoE	Apolipoproteína E
C-H	Carbono-hidrogênio
CO	Contraceptivo oral
COEP	Comitê de ética em pesquisa
COs	Contraceptivos orais
CT	Colesterol total
D-Di	Dímero D
dL	Decilitros
ELFA	<i>Enzyme linked fluorescent assay</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
F1+2	Fragmento 1+2 da protrombina
FAP	Fatores ativadores de plaquetas
HDL	Lipoproteína de alto peso molecular
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IDL	Lipoproteína de peso molecular intermediário
IMC	Índice de massa corpórea
JN	Jovens não em uso de contraceptivo oral
JP	Jovens em uso de contraceptivo oral
L	Litro
LCAT	Lecitina colesterol aciltransferase
LDL	Lipoproteína de baixo peso molecular
LDLc	LDL colesterol
LDLox	LDL oxidado
LDLs	Lipoproteínas de baixo peso molecular
Lp(a)	Lipoproteína (a)
mg	Miligramas

mL	Mililitro
MN	Menopausadas não em uso de terapia de reposição hormonal
MP	Menopausadas em uso de terapia de reposição hormonal
NO	Óxido nítrico
NPC1-L1	<i>Niemann-Pick C1-like 1</i>
°C	Graus Celsius
OH	Hidroxila
P	Significância estatística
PAI-1	Inibidor do ativador do plasminogênio 1
PCR	Proteína C reativa
PCRus	Proteína C reativa ultrasensível
PDF	Produto de degradação da fibrina
PLASM.	Plasminogênio
pmol/L	Picomol por litro
Q1	Primeiro quartil
Q3	Terceiro quartil
QM	Quilomícrons
RPM	Rotações por minuto
TAFI	Inibidor da fibrinólise ativado pela trombina
TCLE	Termo de consentimento livre esclarecido
TG	Triglicérides
t-PA	Ativador do plasminogênio tecidual
TPFI	Inibidor da via do fator tecidual
TRH	Terapia de reposição hormonal
TV	Trombose venosa
TVP	Trombose venosa profunda
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
u-PA	Ativador do plasminogênio do tipo uroquinase
VLDL	Lipoproteína de muito baixo peso molecular
α -TNF	Fator de necrose tumoral

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E RELEVÂNCIA DO TEMA.....	16
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 Lipídios.....	18
2.1.1 <u>Ácidos graxos</u>.....	19
2.1.2 <u>Triglicerídeos</u>.....	20
2.1.3 <u>Colesterol</u>.....	20
2.2 Lipoproteínas.....	22
2.3 Apolipoproteínas.....	25
2.3.1 <u>Índice de Castelli II e relação apoB/apoA</u>.....	26
2.4 Metabolismo das lipoproteínas.....	27
2.5 Lipoproteína (a).....	28
2.6 Aterogênese.....	30
2.7 Inflamação e aterosclerose.....	31
2.8 Marcadores de hipercoagulabilidade e sistema fibrinolítico.....	32
2.8.1 <u>F1+2</u>.....	35
2.8.2 <u>Dímero D</u>.....	35
2.8.3 <u>PAI-1</u>.....	36
2.8.4 <u>Plasminogênio</u>.....	37
2.9 Aterosclerose e marcadores hemostáticos.....	37
2.10 Lipoproteína (a) e fibrinólise.....	38
2.11 Hormônios e implicações clínicas.....	39
3 JUSTIFICATIVA	43

4 OBJETIVOS.....	45
4.1 Objetivo geral.....	45
4.2 Objetivos específicos.....	45
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	46
5.1 Casuística.....	46
5.2 Critérios de inclusão e de não inclusão.....	46
5.2.1 <u>Critérios de inclusão</u>	46
5.2.2 <u>Critérios de não inclusão</u>	47
5.3 Amostras biológicas.....	47
5.4 Delineamento experimental.....	49
5.5 Métodos.....	49
5.6 Análise estatística.....	53
6 RESULTADOS.....	55
7 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	60
7.1 Perfil lipídico convencional.....	60
7.2 Perfil lipídico complementar.....	61
7.3 Marcadores hemostáticos.....	64
7.4 Glicose e PCR.....	68
7.5 Índice de Castelli II e demais relações.....	68
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	72
9 CONCLUSÕES.....	73
REFERÊNCIAS.....	74
ANEXO A.....	83
ANEXO B.....	84
ANEXO C.....	87

ANEXO D.....	89
ANEXO E.....	90
ANEXO F.....	91
ANEXO G.....	95
ANEXO H.....	96
ANEXO I.....	97
ANEXO J.....	98

1 INTRODUÇÃO E RELEVÂNCIA DO TEMA

A lipoproteína (a) [Lp(a)] é uma molécula com composição semelhante à fração da lipoproteína de baixa densidade (LDL), diferenciando-se na constituição proteica por apresentar uma molécula adicional de apolipoproteína A acoplada à apolipoproteína B por pontes de dissulfeto (1,2). Tal molécula tem homologia estrutural com o plasminogênio, um componente do sistema fibrinolítico responsável pela dissolução do coágulo de fibrina, por meio de sua conversão à plasmina pelo ativador tecidual do plasminogênio (t-PA) (3).

A Lp(a) é considerada um fator de risco independente para doenças cardiovasculares (1,4) por favorecer a aterogênese promovendo um aumento do depósito de colesterol na camada íntima das artérias e/ou inibindo a fibrinólise devido à semelhança estrutural de um dos seus sítios com o plasminogênio, portanto, apresenta uma importante ligação entre a aterogênese e trombogênese (1,4,5).

A maioria dos eventos cardiovasculares isquêmicos é iniciada com o rompimento de uma placa aterosclerótica seguida da formação de um trombo (6). Níveis plasmáticos elevados de Lp(a) propiciam o depósito do colesterol na parede do vaso, seguido de ruptura da integridade no revestimento vascular, o que impede a manutenção da fluidez do sangue, dessa forma, favorecendo a ativação do sistema da coagulação e inibição do sistema fibrinolítico gerando distúrbios cardiovasculares (2).

A aterogênese e a trombogênese podem estar associadas a diversas causas como fatores genéticos, certas patologias, condições fisiológicas, tabagismo, hábitos de vida, além da interferência dos hormônios femininos e idade (7). O uso de hormônios como método contraceptivo e na terapia de reposição hormonal pode interferir na hemostasia favorecendo um estado de hipercoagulabilidade e, conseqüentemente, se somar à significância dos níveis plasmáticos elevados de Lp(a) nos eventos cardiovasculares (8,9,10).

Embora a dosagem da Lp(a) não seja ainda solicitada na rotina pela clínica médica, o impacto da Lp(a) deve ser considerado uma vez que a mesma está relacionada não só com eventos cardiovasculares por comprometer o perfil lipídico, mas também parece estar interferindo na hemostasia que pode ainda ser influenciada pela idade, bem com o uso de hormônios (1, 2, 3, 11). Todavia, não há um consenso na literatura se níveis plasmáticos de Lp(a) estão ou não associados ao estilo de vida, à idade, sexo, etnia e uso de medicamentos, tais como hormônios.

À luz do conhecimento do potencial efeito pró-coagulante do uso de hormônio sobre o sistema hemostático favorecendo a formação de fibrina e do efeito inibidor da lipoproteína (a) sobre o sistema fibrinolítico, ressalta-se a necessidade de estudos sobre a relação da Lp(a) com o sistema fibrinolítico em mulheres jovens em uso ou não de contraceptivos e em mulheres menopausadas em uso ou não de terapia de reposição hormonal, objetivando obter um maior conhecimento acerca não apenas do papel do hormônio como também da idade sobre o *link* Lp(a) e fibrinólise.

A nossa principal hipótese é que a atuação do sistema fibrinolítico diminui à medida do aumento dos níveis de Lp(a) e que o uso de hormônios poderia apresentar um potencial benefício neste contexto.

Caso tal suposição seja confirmada, poderá ter um impacto na decisão de mulheres quanto ao uso de terapia de reposição hormonal (TRH) na menopausa. Outra hipótese é que os efeitos do uso de hormônio, seja na forma de contraceptivos orais ou TRH, pode ter um efeito distinto conforme a idade da usuária.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Lipídios

Os lipídios são moléculas formadas por ligações carbono-hidrogênio (C-H) não polares, que após hidrólise formam moléculas de ácidos graxos e/ou álcoois complexos (12), sendo transportados na forma de lipoproteínas (13). Os lipídios são insolúveis em água e solúveis em solventes apolares com grande importância fisiológica por participarem como emulsificantes na digestão, constituintes das membranas celulares, hormônios, manutenção do gradiente eletroquímico, como fonte energética, da sinalização celular e ainda na ancoragem proteica (12,14).

Além da manutenção eletroquímica por serem componentes estruturais de membrana, os lipídios destacam-se pela mediação da transdução de sinal que pode ser exemplificada pelo processo de metabolização do ácido araquidônico, por ação enzimática, formando mediadores lipídicos eicosanóides como as prostaglandinas, leucotrienos, lipoxinas, ácidos epoxieicosatrienoico e tromboxanos (14). E, ainda com importância fisiológica, especialmente em processos inflamatórios, os lipídios participam dos fatores ativadores de plaquetas (FAP), considerados os primeiros fosfolípidos “intactos” relacionados com ação mensageira (15).

Patologicamente, os lipídios estão intimamente relacionados com a aterosclerose, caracterizada pelo depósito do lipídeo na parede das artérias associado à presença de macrófagos (16) com o diabetes, obesidade e a doença de Alzheimer (14). De acordo com sua estrutura química, os lipídeos podem ser divididos em: ácidos graxos, colesterol, triglicerídeos e fosfolípidos, os quais são importantes mediadores tanto na sinalização quanto no crescimento celular. E, também constituintes das membranas celulares e precursores de prostaglandinas (11,14).

Sob os preceitos clínicos e fisiológicos, além dos fosfolípides que fazem parte da estrutura das membranas, os lipídeos de maior importância são os ácidos graxos, triglicerídeos e o colesterol, detalhados a seguir (7).

2.1.1 Ácidos graxos

Os ácidos graxos (AG) são moléculas cuja fórmula química geral é RCOOH, sendo "R" um grupo alquil. Apresentam de 4 a 36 átomos de carbono podendo apresentar-se como ácidos graxos saturados, quando não apresentam ligações duplas entre os átomos de carbono e ácidos graxos insaturados, que apresentam ligações duplas entre seus átomos de carbono e são mais propensos à oxidação e divididos em dois grupos: monoinsaturados quando contem uma ligação dupla entre seus átomos de carbono e poli-insaturados quando apresentam múltiplas ligações duplas (7,11,12,17).

Os ácidos graxos se encontram livres na circulação ligados à albumina ou na forma esterificada, triglicerídeos. A disponibilidade dos ácidos graxos livres no plasma sofre interferência da demanda energética e da fonte de glicose (11).

A maioria dos ácidos graxos é sintetizada no organismo, exceto os chamados ácidos graxos essenciais, destacando-se nesse grupo o ácido linoleico, encontrado em plantas, o qual é convertido em ácido araquidônico, precursor da síntese de prostaglandina e do processo de mielinização (11).

O catabolismo dos AG ocorre nas mitocôndrias, por meio de uma série de reações descritas como β -oxidação. Os AG sofrem catabolismo e oxidação enzimática com produção de energia. Neste processo as cadeias carbônicas são degradadas tendo a acetil-CoA como produto final, a qual é condensada enzimaticamente com o oxaloacetato, proveniente do metabolismo dos carboidratos, com produção de citrato. O citrato é o principal componente do ciclo do ácido tricarboxílico (ciclo de Krebs), finalizando com a formação de adenosina trifosfato (ATP) (11).

2.1.2 Triglicerídeos

Os triglicerídeos (TG) pertencem ao grupo dos acilgliceróis ou ésteres de glicerol, grupo formado por álcoois com três átomos de carbonos e uma hidroxila em cada um dos carbonos. Podem ser divididos de acordo com o número de grupos acil graxos em monoglicerídeos ou monoacilgliceróis, diglicerídeos ou diacilgliceróis e triglicerídeos ou triacilgliceróis (11). Os monoglicerídeos são utilizados na indústria alimentícia, cosméticos e em formulações farmacêuticas por terem efeito surfactante e não serem alergênicos (18).

Os triglicerídeos são encontrados no plasma sanguíneo e correspondem a 95% da gordura armazenada no tecido adiposo. Após o consumo deste e de outros lipídeos da dieta os mesmos são digeridos no duodeno e absorvidos no íleo proximal, os TG sofrem ação de lipases pancreáticas que os hidrolisam a AG e monoglicerídeos os quais se unem a outros lipídeos e apolipoproteína B-48 (apoB-48) formando os quilomícrons e atingindo então a corrente sanguínea (7,11,13).

No jejum os triglicerídeos armazenados no tecido adiposo são hidrolisados em glicerol e ácidos graxos livres por ação de lipases lipoproteicas (19). Posteriormente, são reagrupados para formação dos TG e utilizados como fonte energética (11).

Níveis plasmáticos de triglicerídeos podem apresentar-se elevados com a ingestão de álcool, dietas ricas em gorduras, na obesidade, gravidez e ainda associado a algumas patologias como pancreatite aguda, diabetes e gota (13). Dieta hiperglicídica pode também estar associada a hipertrigliceridemia (16).

2.1.3 Colesterol

É um componente essencial para manutenção da integridade de todas as células, precursor dos hormônios esteroides, vitamina D e ácidos biliares (7,20). É

um álcool esteroide com 27 átomos de carbono dispostos em um sistema de anel tetracíclico de esterano, com uma cadeia lateral (C-H). É uma molécula anfipática por apresentar um grupo hidroxila (OH) em seu anel A (11).

A principal fonte externa de colesterol é por meio do consumo de produtos animais. Antes da absorção, o colesterol é emulsificado a pequenas micelas mistas. As esterases pancreáticas secretadas no intestino delgado hidrolisam rapidamente o colesterol esterificado em colesterol livre (11).

A maior parte da absorção do colesterol ocorre no jejuno médio e íleo terminal do intestino delgado com auxílio da proteína *Niemann-Pick C1-like 1* (NPC1-L1), uma proteína de superfície do enterócito que favorece a absorção intestinal do colesterol (7).

O colesterol quando entra na mucosa é acondicionado com os triglicerídeos, fofolípídios e apolipoproteína B-48 aos quilomícrons que são secretados na linfa e na circulação sanguínea para a distribuição de lipídios para o fígado e tecidos periféricos (7,11).

Além da alimentação, a fonte de colesterol pode ser interna, ou seja, síntese endógena que ocorre principalmente no fígado e intestino. A biossíntese se dá com a conversão da acetil-CoA em 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) que é reduzido em mevalonato e, em seguida, é descarboxilado em uma série de unidades de isopreno de cinco carbonos. Ocorre a condensação dessas unidades de isopreno inicialmente em um intermediário de 10 carbonos (geranil pirofosfato) e, em seguida, em um intermediário de 15 carbonos (farnesil pirofosfato). A junção de duas moléculas de 15 átomos de carbono (C₁₅) resulta na formação do esqualeno. No retículo endoplasmático, o esqualeno é inicialmente oxidado e depois passa por ciclização, formando o intermediário lanosterol (4 anéis e 30 carbonos). Por fim, uma série de reações de oxidação-descarboxilação forma a molécula com 27 átomos de carbonos (11).

Fatores ambientais, nutricionais e hormonais têm sido relacionados com a taxa de síntese de colesterol, mas ainda não é possível concluir até que ponto ocorre a sobreposição do sistema fisiológico sobre eles (21).

O colesterol é esterificado por meio de duas enzimas, Acetilcolesterol acetiltransferase (ACAT) nas células e, lecitina colesterol aciltransferase (LCAT), na circulação, sobre o colesterol das lipoproteínas de alta densidade (HDL) para formar éster de colesterol. Os ésteres de colesterol representam cerca de 70% do colesterol total no plasma (11).

O catabolismo é limitado para a maioria das células periféricas. Ocorre hidrólise dos ésteres de colesterol por meio de lipases celulares. Um terço da produção diária de colesterol é convertido em ácidos biliares e esses são reabsorvidos quase na sua totalidade por meio da circulação êntero hepática. A porção do colesterol que não é utilizada para formação de ácidos biliares, é secretada na circulação sob a forma de lipoproteínas (11).

A dosagem do colesterol total faz parte do protocolo de avaliação laboratorial dos parâmetros lipídicos e pode não conseguir mensurar, por si só, corretamente o risco cardíaco em indivíduos com níveis elevados de LDL, diabetes e síndrome metabólica, sendo considerados desejáveis os valores inferiores a 200mg/dL, limítrofes os valores entre 200 e 239 mg/dL e elevados valores superiores a 240 mg/dL (7).

2.2 Lipoproteínas

As lipoproteínas são macromoléculas plasmáticas transportadoras e solubilizadas de lipídeos endógenos (sintetizados no fígado) e exógenos (absorvidos no intestino) (7,13). Tipicamente esféricas, apresentam na região central, triglicerídeos e ésteres de colesterol (lipídios neutros não polares); na região mais externa fosfolipídios e colesterol livre (lipídeos anfipáticos mais polares) e na superfície uma ou mais proteínas específicas denominadas apolipoproteínas (apo) (7,11). Os componentes proteicos das lipoproteínas (apolipoproteínas) permitem a integridade da molécula, controlam atividades enzimáticas e atuam como ligantes no processo de captura das lipoproteínas no nível de superfície celular (11).

Cada lipoproteína apresenta um percentual diferente de proteína e lipídeo, o que interfere na sua densidade e assim possibilita sua separação e categorização. Podem ser divididas em seis grupos: quilomícrons, lipoproteína de muito baixa densidade ou *very low density lipoprotein* (VLDL), lipoproteína de baixa densidade ou *low density lipoprotein* (LDL), lipoproteína de densidade intermediária ou *intermediary density lipoprotein* (IDL), lipoproteína de alta densidade ou *high density lipoprotein* (HDL) e lipoproteína (a) (7,11), sendo os quilomícrons e as VLDL ricas em triglicérides, maiores e menos densas, e as LDL e HDL ricas em colesterol (7).

Os quilomícrons são lipoproteínas transportadoras dos lípidos provenientes da dieta, absorvidos no intestino delgado após hidrólise promovida por lipases pancreáticas (7,13). São esféricos e apresentam na região central os triglicérides, correspondendo a aproximadamente 90% do seu peso, recobertos por uma monocamada de fosfolípidos (22). A porção de colesterol permanece entre 1 a 2% do peso de acordo com a dieta ingerida, não impactando de forma significativa nos valores de níveis séricos de colesterol pós-prandial.

A VLDL é uma lipoproteína rica em triglicerídeos que apresenta como principal apolipoproteína a apolipoproteína B 100 (apoB-100) (7,13). Tem efeito aterogênico tornando a hipertrigliceridemia um fator de risco independente para doenças coronarianas já que contribui para sustentação das partículas de VLDL (7,13). O tamanho da partícula de VLDL é dependente do fornecimento de triglicerídeos pelo fígado, sendo maior no consumo excessivo de álcool, obesos e em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (13).

A LDL tem em sua estrutura apenas a apoB-100 e uma pequena porção de TG, sendo constituída principalmente por colesterol e conta com receptores específicos (LDL-R) para sua captura por células hepáticas e periféricas (7). A expressão de tais receptores interfere diretamente nos níveis plasmáticos do colesterol, sendo a expressão maior, com a redução do colesterol intracelular. A colesterolemia também depende da atividade da enzima HMG-CoA redutase (7).

O aumento dos níveis plasmáticos de LDL pode estar associado à dieta rica em gorduras, aumento da síntese endógena ou redução do catabolismo hepático da

molécula que está associada a uma alteração quantitativa ou qualitativa dos receptores por alteração gênica (23).

A forma oxidada da LDL está associada ao início da aterosclerose. Uma vez oxidada, torna-se um agente quimiotático para monócitos, sendo mais facilmente captada por receptores de macrófagos que se transformam em células espumosas e estimulam o processo inflamatório na parede dos vasos. Estas são tóxicas para as células endoteliais e promovem a sua vasoconstrição por inativação dos efeitos do óxido nítrico (NO), ativam as plaquetas e também estimulam a multiplicação de células musculares lisas (24,25).

Uma das ferramentas para mensuração dos níveis séricos de LDL é a equação de *Friedwald*: $LDL = CT - (HDL + TG/5)$, sendo categorizados como ótimo, desejável, limítrofe, alto e muito alto, os valores de 99 mg/dL, 100 a 129 mg/dL, 130 a 159 mg/dL, 160 a 189 mg/dL e acima de 190 mg/dL, respectivamente (7). A IDL é formada a partir da hidrólise da molécula de VLDL e origina a LDL (26).

O HDL apresenta duas das principais apolipoproteínas, a apoA-I e apoA-II que envolvem o núcleo lipídico de ésteres de colesterol, colesterol não-esterificado e triacilglicerídeos em menor quantidade. As apolipoproteínas envolvem o núcleo juntamente com os fosfolípidos e colesterol não esterificado (24).

Pode ser considerado um fator de risco independente para as doenças cardiovasculares quando em níveis plasmáticos reduzidos e por ter papel anti-aterogênico principalmente com sua participação no transporte reverso do colesterol, ou seja, retorno do colesterol de tecidos extra-hepáticos para o fígado. Além disso, o HDL participa na proteção endotelial por meio da inibição do estresse oxidativo, da expressão de moléculas de adesão celular, da ativação leucocitária, produção de NO e coagulação (7,13,24,27). Seu efeito protetor também está relacionado com a capacidade de reduzir a oxidação da LDL, gatilho para o processo de aterosclerose (24). Receptores SR-B1 captam o colesterol do HDL levando-o até o fígado (7).

O HDL, em concentrações fisiológicas, estimula a produção de prostaglandina (PGI₂), sendo essa produção dependente da enzima ciclooxigenase (24). As prostaglandinas favorecem grande parte dos eventos protetores do vaso como a

vasodilatação, redução na ativação plaquetária e liberação de fatores de crescimento responsáveis pela proliferação de células musculares lisas (24).

2.3 Apolipoproteínas

Apolipoproteínas (apo) é um termo que denomina o componente proteico das lipoproteínas sendo classificadas em apo A (apoA-I, apoA-II e apoA-IV), apo B (apoB-100 e apoB-48), apo C (apoC-I, apoC-II, apoC-III) e apo E (26). As apolipoproteínas possuem papéis fisiológicos importantes por participarem do metabolismo das lipoproteínas formando partículas lipoprotéicas, apoB-100 e apoB-48, por se ligarem em receptores de membranas, apoB-100 e apoE, e por atuarem como cofatores enzimáticos, apoC-II, apoC-III e apoA-I (7).

As apo B e A representam de forma mais fidedigna as placas aterogênicas e não aterogênicas uma vez que a apo B é a principal apolipoproteína constituinte das VLDL, IDL e LDL e a apo A o principal constituinte do HDL (7,28).

A forma mais representativa da apo A é a apo A-I, que é sintetizada no fígado e intestino e esta relacionada com o transporte reverso do colesterol por facilitar o funcionamento do ABCA-I (*ATP binding cassette transporter A1*), uma proteína específica que participa do processo de transformação da apolipoproteína em HDL discóide e também por atuar como cofator para a LCAT que esterifica o colesterol transferido para as partículas discóides (24,26,28).

Níveis plasmáticos diminuídos de apoA-I e HDL estão associados ao aumento do risco para doenças cardiovasculares, e a diminuição das concentrações destes marcadores pode estar associada a uma mutação no gene da apoA-I que leva a uma deficiência da molécula de HDL (26).

Até o momento, a mensuração sérica das concentrações de apoA, faz-se somente pela determinação da apoA-I, e não pela determinação de todas categorias

de apoA e, os valores desejados para mulheres devem ser maiores que 1,15 g/L e para os homens que 1,25 g/L (28).

A apoB é o principal componente da LDL (26), apresenta-se como apoB-48 e apoB-100, sendo a primeira sintetizada no intestino e encontrada principalmente nos quilomícrons e seus remanescentes e, por não estar presente na VLDL, é um bom marcador de QM plasmáticos (22,28). A apoB-100 é sintetizada no fígado e constitui principalmente as moléculas de LDL e IDL tendo um papel importante na aterogênese, quando em excesso. Proporciona a ligação das moléculas de LDL aos receptores celulares e, assim, a entrada de LDL para as células (28). A apoB-100 também está presente na Lp(a) e, nesse caso, tem um papel importante na aterosclerose por se ligar a um polipeptídeo homólogo ao plasminogênio (26).

O controle hepático de secreção da apoB e de sua depuração é feito por receptores celulares, tendo papel fundamental na manutenção da homeostase do colesterol (20). De acordo com o *American College of Cardiology*, a determinação da apoB deveria ser inserida na rotina clínica (29).

As demais apolipoproteínas (apoC-I, apoC-II, apoC-III, apoC-IV, apoE-II, apoE-III, apoE-IV, apoA) não são determinadas na rotina laboratorial, apresentam relação com a distribuição lipídica, mas seus papéis ainda não foram completamente elucidados, destacando-se dentre elas a apoA por ser constituinte da Lp(a) e ter seu papel trombogênico à medida que compete com o plasminogênio por sítios de ligação (28).

2.3.1 Índice de Castelli II e a relação apoB/apoA

O índice de Castelli II, que é calculado pela relação LDL/HDL, e a relação apoB/apoA, são as duas possibilidades de estimar o risco cardiovascular (7,30). A segunda relação considera as lipoproteínas aterogênicas e antiaterogênicas, e deve ser tomada apenas como prognóstico de risco e não para monitoramento terapêutico ou diagnóstico de dislipidemia (7). Valores superiores a 2,9 no índice de Castelli II e

0,8 na relação apoB/apoA, na mulher, são considerados fatores de risco cardiovascular (28).

A relação apoB/apoA é considerada como um bom preditor de risco mesmo em pacientes com perfil lipídico clássico dentro dos valores de referência quando comparada à relação LDL/HDL, especialmente no infarto agudo do miocárdio (IAM) fatal (29,31), sobressaindo à relação LDL/HDL por não apresentar as limitações relacionadas aos valores de triglicérides no cálculo do LDL pela equação de *Friedwald* (29).

2.4 Metabolismo das lipoproteínas

O metabolismo das lipoproteínas pode ser exógeno (intestinal) ou endógeno (hepático) (7). A via exógena, que ocorre após o processo de absorção, é caracterizada pelo transporte do intestino para o fígado, enquanto a via endógena representa o transporte das lipoproteínas sintetizadas nos hepatócitos, do fígado para os tecidos periféricos, assim como dos adipócitos para os tecidos periféricos (32).

A via exógena inicia-se com a atuação das lipases pancreáticas que hidrolisam e emulsificam os lipídeos (7). A lipase lipoproteica localizada no endotélio de capilares do tecido muscular e adiposo hidrolisa os quilomícrons circulantes, anteriormente produzidos nos enterócitos e os TG que os compõe produzindo AG e gliceróis, sendo os AG resultantes dessa lipólise utilizados pelos tecidos periféricos ou armazenados nos adipócitos (7,22,32). O fígado complementa esse processo capturando quilomícrons e AG remanescentes, ou seja, quilomícrons com teor de TG reduzidos, para formação do VLDL (7,32). A captação dos remanescentes de quilomícrons nos hepatócitos ocorre com auxílio dos receptores de LDL que, além de participarem da remoção desses, também estão envolvidos na remoção da IDL e de LDL (22).

A via endógena é caracterizada pela síntese hepática, fase não relacionada com a absorção. Nessa via os AG livres são transportados dos adipócitos para os tecidos periféricos principalmente pela albumina e, então, tornam-se fonte de energia após processo de oxidação (32).

A síntese hepática de VLDL é dependente da ação da proteína de transferência de triglicérides microsomal (PTM) que transfere os TG para a apolipoproteína B. A lipase lipoproteica hidrolisa os TG das VLDL que se transformam em remanescentes sendo removidos pelo fígado para formar IDL e, posteriormente, as LDL (7).

O equilíbrio dos níveis séricos de colesterol é determinado por fonte exógena e síntese hepática, sendo o passo limitante a enzima HMG-CoA redutase, fundamental na síntese do colesterol e importante alvo terapêutico. O funcionamento dos receptores hepáticos responsáveis pelo *clearance* das lipoproteínas e também pelo transporte reverso do colesterol é um processo pelo qual o colesterol dos tecidos periféricos é removido por receptores de lipoproteínas, como a lipoproteína de alta densidade (20). A principal via de mobilização e retirada do colesterol das placas ateromatosas para o plasma e sistema linfático é por meio dos receptores de HDL (20).

No transporte reverso do colesterol, a extração do colesterol da célula pelas moléculas de HDL é facilitada pela ação do ABCA1 (7). O colesterol é ativamente bombeado para fora das células pelo transportador ABCA1 na apoA-I pobre em colesterol, que se liga às células (7).

2.5 Lipoproteína (a)

A Lp(a) foi descrita por Berg em 1963, como sendo uma variante genética da LDL. Apresenta semelhança estrutural com a LDL uma vez que também apresenta a apolipoproteína B-100 em sua constituição. No entanto, a Lp(a) tem em sua constituição uma molécula de apo(a), proteína rica em carboidrato, ligada à

apolipoproteína B-100 por pontes dissulfeto (5,11,33). A apo(a) é composta por um domínio de protease inativa e dois domínios de estrutura tridimensional altamente glicosilados de cadeias pesadas denominadas *kringles* (1).

Estudos apontam o fígado como o principal órgão de síntese da Lp(a). O processo ainda não foi bem elucidado, mas estudos *in vitro* indicam a síntese nos hepatócitos com posterior associação à apolipoproteína B-100 na superfície celular. A captação da Lp(a) parece estar relacionada pela afinidade, mesmo que reduzida, aos receptores da LDL ou a outros receptores como *scavenger* dos macrófagos, receptor de megalina, de assialoglicoproteína, mas ainda não está bem elucidada. (1). A quantificação de Lp(a) pode ser realizada por ensaios que utilizam anticorpos monoclonais anti-apo(a), enzima imunoensaio (ELISA), nefelométricos ou turbidimétricos. Níveis reduzidos não estão relacionados com quadros patológicos (1). A função fisiológica da Lp(a) ainda não é conhecida (3) e estudos não consideram sua participação no transporte e metabolismo lipídico (1,2,3). A Lp(a) tem um tempo de meia vida na circulação entre 3 a 4 dias e valores plasmáticos entre 0,1 a 300 mg/dL. Fatores hereditários interferem diretamente nos seus níveis plasmáticos e os fatores ambientais praticamente não atuam de forma positiva ou negativa nessa grande variação inter individual (2).

Níveis plasmáticos de Lp(a) não estão associados à idade, sexo, diabetes, dieta restritiva de colesterol ou ao uso de drogas que reduzem a concentração plasmática de colesterol como as estatinas, inibidores da enzima HMG-CoA redutase (3). MARANHÃO *et al.* 2014 sugeriram que tanto as estatinas como os fibratos, drogas que diminuem a concentração plasmática de colesterol e triglicérides, não reduzem os níveis plasmáticos da Lp(a) sendo portanto, refratária ao estilo de vida e intervenção medicamentosa (5,33). Por não sofrer tantas interferências dos fatores ambientais e comportamentais a Lp(a) pode ser considerada um marcador genético para o risco da doença arterial coronária (DAC) (6). Por outro lado, BERMUDEZ *et al.* 2015 consideraram que hábitos de vida, etnia, hormônios, idade e sexo interferem nos níveis plasmáticos de Lp(a), os quais mencionaram ainda que o uso de medicamentos indicados para hipercolesterolemia podem reduzir os valores de Lp(a), mas não são tão eficientes quanto a plasmaferese (34). Níveis elevados de Lp(a) podem ser considerados marcadores

de risco independente para doenças cardiovasculares (33) que pode ser ainda mais marcante em indivíduos com níveis elevados de LDL (5).

A Lp(a) está relacionada com a ativação da inflamação aguda e participa no desenvolvimento de eventos aterotrombóticos por favorecer a aterogênese e inibir parcialmente os efeitos do sistema fibrinolítico. Essa ação patogênica pode estar relacionada aos níveis plasmáticos e/ou ao polimorfismo da apo(a) (3). Processos inflamatórios agudos podem aumentar os níveis plasmáticos de Lp(a) de forma transitória (2). Níveis elevados de Lp(a), assim como de LDL, são fatores de risco para o desenvolvimento prematuro de aterosclerose e doenças cardiovasculares (5). Valores plasmáticos acima de 30 mg/dL podem elevar o risco relativo para doenças cardiovasculares em cerca de 1,6 vezes (33).

A Lp(a) apresenta semelhanças com o LDL e com o plasminogênio (4). A apo(a) encontrada na Lp(a) apresenta homologia estrutural com o plasminogênio, um componente do sistema fibrinolítico, como mencionado no item 2.10 (11,33). Dessa forma, é de se esperar que níveis elevados de Lp(a) possam favorecer eventos trombóticos por reduzir a fibrinólise.

2.6 Aterogênese

Aterosclerose é uma resposta do organismo resultante de uma doença inflamatória crônica, que se inicia após injúria endotelial, de origem multifatorial (7). As LDL plasmáticas em estado de hipercolesterolemia sofrem aumento expressivo na endocitose, seja por receptores específicos e também inespecíficos, fato que aumenta a concentração de LDL nativa no interior da célula endotelial e assim aumento do consumo de óxido nítrico (NO) e produção de radicais livres (35). As LDL sofrem oxidação na camada íntima da artéria e, uma vez oxidadas, tornam-se citotóxicas e induzem a migração de monócitos que promovem a fagocitose, enquanto macrófagos, transformam-se em células espumosas (23,35). Ocorre a expressão aumentada de várias moléculas pelas células endoteliais lesionadas

como ICAM-1(molécula de adesão intercelular), E-selectina, VCAM-1 (molécula de adesão vascular) e a interleucina-8 (IL-8) recrutadora de neutrófilos (23).

Sugere-se, portanto, que o principal fator envolvido no desencadeamento da formação da aterosclerose seja a oxidação da LDL com formação de LDL oxidada (LDLox), quimiotaxia para monócitos, com auxílio de receptores *scavengers* que facilitam a fagocitose da LDLox culminando na formação de células espumosas (23).

A aterosclerose é um processo gradativo e complexo que ainda conta com a inativação do vasodilatador óxido nítrico, devido à presença de ânion do tipo superóxido. E, ainda devido a apoptose de células endoteliais, estimulada pela presença de radicais livres, resulta em um estado pró-coagulante que pode ter como consequência o infarto do miocárdio, infarto cerebral e/ou aneurisma aórtico (23).

O processo consolida-se com a formação da placa aterosclerótica devido à junção celular, produtos de necrose, componentes da matriz extracelular, que podem ser estáveis e recobertas por colágeno, ou ainda instáveis, quando caracterizadas por processo inflamatório intenso e com grande capacidade proteolítica. As placas ateroscleróticas instáveis quando se rompem e expõem seu material lipídico se tornam altamente trombogênicas (7).

2.7 Inflamação e aterosclerose

Por se tratar de um processo inflamatório, além das citocinas, as proteínas de fase aguda positivas são marcadores na patogênese da aterosclerose, principalmente a proteína C reativa ultrasensível (PCRus) (23). A PCRus é considerada um bom marcador de risco para o infarto do miocárdio, isquemia, doença vascular periférica e cardiovascular podendo estar elevada em condições consideradas fatores de risco como a obesidade, inflamação, síndrome metabólica, diabetes e hipertensão arterial (23,33).

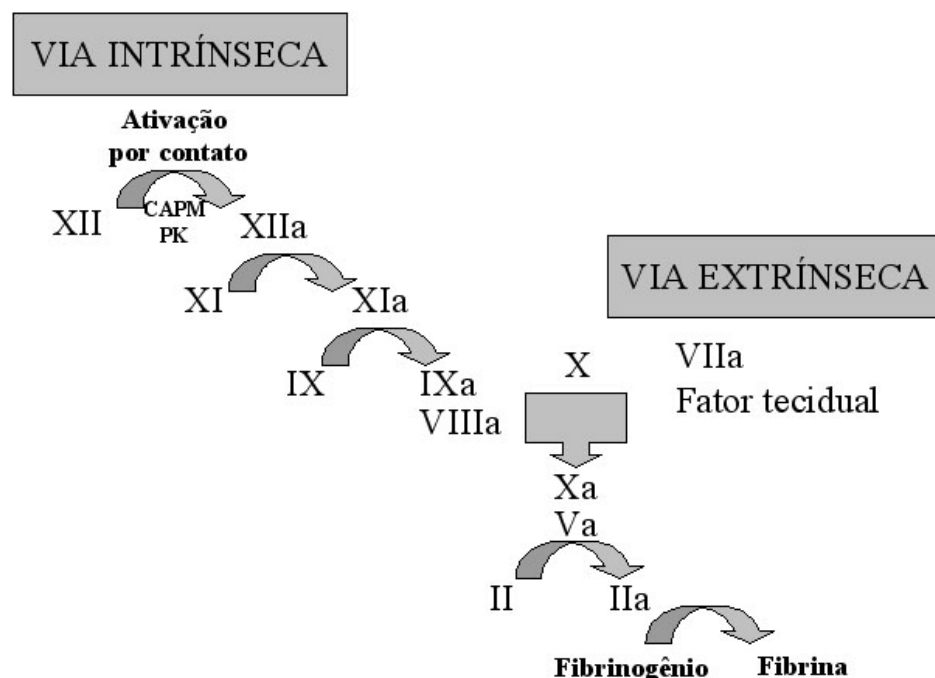
O método da PCRus tem sido amplamente estudado na predição de eventos vasculares por ter maior sensibilidade e poder indicar o risco até mesmo em homens e mulheres saudáveis (36). Além de ser um marcador associado à inflamação crônica característica na aterosclerose, atribui-se a PCR um papel na regulação da adesão molecular, no aumento da quimiotaxia relacionada a monócitos, na redução da síntese de NO, no aumento da expressão do inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1) e, assim, favorecendo a aterotrombose (33), fato que pode ser potencializado com a ativação do sistema complemento e lise celular (23). Em eventos ateroscleróticos, a PCR pode ter uma produção extra-hepática, em células musculares lisas, macrófagos, células mononucleares específicas, células das artérias coronárias e células epiteliais renais, sugerindo-se sua atuação local sobre o endotélio e outros tecidos (23).

2.8 Marcadores da hipercoagulabilidade e sistema fibrinolítico

A cascata de coagulação e o sistema fibrinolítico atuam de modo a manter a hemostasia e evitar doenças trombóticas e hemorrágicas, respectivamente (37). O modelo inicialmente delineado da coagulação (**Figura 1**) traduz o processo como uma cascata de reações ativadas por ação proteolítica de proteases plasmáticas em uma sequência de zimógenos finalizando com a conversão do fibrinogênio em fibrina por ação da trombina (37,38). Tal modelo divide a coagulação em duas vias (extrínseca e intrínseca) que unem-se na chamada via comum a partir da ativação do fator X (FX) (37,38). A via extrínseca tem a participação de elementos do espaço extravascular e componentes do sangue, enquanto a via intrínseca é iniciada por elementos do espaço intravascular. A via extrínseca recebe este nome pela forma direta de ativação do fator X pelo fator VII plasmático (em presença do fator tecidual ou tromboplastina), enquanto a intrínseca, por requerer contato com superfície de carga negativa e outros componentes do plasma para ativação do fator XII que, após ser ativado, ativa o fator XI e, na sequência, ativa o fator IX que, em presença do fator VIII ativado (em presença de íons cálcio), ativa o fator X, iniciando a via comum que finaliza com a formação de fibrina (37,38). Quando o fator X ativado, em

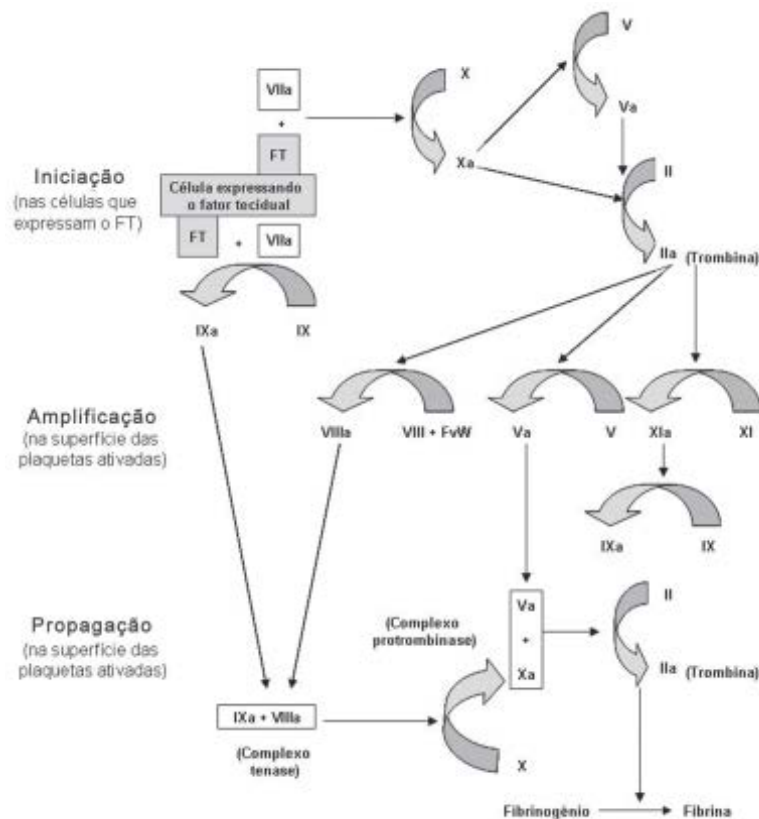
presença de Va , Ca^{2+} e fosfolípidos de carga negativa (complexo protrombinase) atua sobre a protrombina, além da trombina, ocorre a geração do F1+2. Como a trombina é instável e difícil de ser dosada, pode-se utilizar a determinação dos níveis plasmáticos do F1+2, cujos níveis refletem essa geração de trombina e podem mensurar a mesma (39). Uma vez que esse modelo clássico, idealizado em 1960, não consegue atender a alguns questionamentos relacionados à clínica de pacientes portadores de distúrbios hemostáticos, foi proposto um novo modelo para a cascata de coagulação baseado em superfícies celulares (40,41,42) e revisto por Ferreira *et al.*, 2010 considerando no entendimento atual do processo hemostático, a inter-relação dos processos físicos, celulares e bioquímicos que atuam em uma série de estágios ou fases, e não em duas vias como antes. As fases de iniciação, amplificação, propagação e finalização melhor representam o processo que garante a circulação do sangue na forma líquida, restrita ao leito vascular (38) (**Figura 2**).

Figura 1 – Modelo da cascata de coagulação proposto em 1960



* FRANCO, R.F. **Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise**. 2001,34: 229-237, Revista da Faculdade de Medicina da USP.

Figura 2 – Modelo da cascata de coagulação baseada em superfícies celulares



* FERREIRA, C.N. *et al.* **O novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações.** 2010, v. 32, n. 5, p. 416-421, Revista Bras. Hematol Hemoter.

O sistema fibrinolítico é responsável pela dissolução do coágulo de fibrina sendo estimulado ao iniciar-se o processo de coagulação, impedindo o crescimento descontrolado do trombo (43). A fibrinólise inicia-se quando o plasminogênio, uma pró-enzima inativa, é convertida à plasmina pelo ativador do plasminogênio do tipo tecidual (t-PA) ou ativador do plasminogênio do tipo uroquinase (u-PA). Em seguida, a enzima ativa, plasmina, degrada a fibrina promovendo a dissolução do coágulo de fibrina. A plasmina, ao clivar sequencialmente uma série de ligações de moléculas de fibrina, libera produtos de degradação da fibrina (PDF) e peptídeos que promovem a lise do coágulo. O principal PDF é o dímero-D (D-Di), considerado um marcador de hipercoagulabilidade. O processo pode ser antagonizado pelo inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1 (PAI-1) (6). O PAI-1 é uma glicoproteína inibidora, da superfamília serina protease, com capacidade para se ligar e inibir o t-

PA e o u-PA, alterando o sistema fibrinolítico e, dessa forma, favorecendo o estado de hipercoagulabilidade (44). A fibrinólise também pode ser inibida pelo inibidor da fibrinólise ativado pela trombina (TAFI), um zimógeno plasmático que quando ativado pela trombina, tripsina ou plasmina, retira resíduos de lisina da fibrina impedindo assim sua degradação (37). Assim, a determinação dos níveis plasmáticos dos componentes do sistema fibrinolítico (D-Di, PAI-1, TAFI e t-PA) e a determinação dos níveis do fragmento 1+2 da protrombina (F1+2) são bons marcadores para avaliar alterações da fibrinólise e *status* hemostático, cujos resultados podem sinalizar para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (39,45).

2.8.1 F1+2

Níveis elevados do marcador de geração de trombina F1+2 constituem fator de risco independente para trombose venosa profunda (TVP) (46). O aumento do marcador F1+2 é condizente com um estado de hipercoagulabilidade e predisposição à formação de trombos (47), sendo também encontrado em grupos de pacientes que sofreram infarto do miocárdio (48).

2.8.2 Dímero D

O dímero D é o menor fragmento formado após a degradação da fibrina, ou seja, é um biomarcador do processo de formação e degradação da fibrina (49,50).

Tem um alto valor preditivo negativo na TVP, pois quando seus níveis estão dentro dos parâmetros de referência o D-Di é útil para descartar diagnóstico de TVP. No entanto, para o diagnóstico positivo os valores elevados devem ser condizentes com a clínica e com avaliações complementares (50).

Concentrações plasmáticas elevadas do D-Di estão relacionadas com a formação excessiva de fibrina e/ou atuação aumentada da plasmina (49). O D-Di apresenta um valor preditivo positivo muito baixo no caso dos distúrbios circulatórios podendo apresentar-se elevado, acima de 500 µg/L, em processos inflamatórios, infecções, necrose, câncer e no pós operatorio. Em geral, tem-se uma demanda por exames complementares incluindo os de imagem, quando o D-Di apresenta valores elevados e não se consegue descartar a trombose e/ou tromboembolismo (51).

2.8.3 PAI-1

A inibição do sistema fibrinolítico ocorre com a atuação de serpinas (proteínas inibidoras das proteases séricas) sobre os ativadores do sistema, sendo o principal representante, dentre os inibidores, o PAI-1(52).

O PAI-1 modula a atividade do t-PA e reduz a sua atividade fibrinolítica. Níveis elevados de PAI-1 aumentam o risco de trombozes por deficiência na fibrinólise e sobreposição do efeito da coagulação, tornando-o um fator de risco independente para distúrbios circulatórios (53).

A variação na concentração sérica desse marcador, que o torna fator trombofílico quando em níveis elevados, pode estar associada a alterações congênitas, polimorfismos em seu gene e indução na biossíntese pelo fator de necrose tumoral (α -TNF), além do uso de hormônios e fatores de crescimento (53,54).

Apesar de ser considerado um bom biomarcador para quadros de aterotrombose e distúrbios cardiovasculares, a confiabilidade da padronização e determinação no ensaio clínico ainda é questionada no monitoramento do risco ou prognóstico (33).

2.8.4 Plasminogênio

O plasminogênio é uma pró-enzima inativa que no local onde o coágulo é depositado se transforma em plasmina por ação do t-PA, após ativação provocada por lesão no endotélio (53). O t-PA é sintetizado no fígado e sua deficiência e/ou alteração podem estar atrelados de 1 a 2 % aos casos de trombose venosa em jovens, sendo a sua deficiência considerada um fator trombofílico congênito com prevalência média entre 1 a 2 % (53).

O sistema fibrinolítico pode ser avaliado indiretamente por meio da dosagem do plasminogênio e concentrações plasmáticas reduzidas favorecendo a manutenção do coágulo por serem condizentes com um estado de hipofibrinólise (55).

O sistema plasminogênio/plasmina está envolvido em outros processos, além do controle da hemostasia, como desenvolvimento tumoral, controle da matriz extracelular, cicatrização e processos infecciosos (52).

2.9 Aterosclerose e marcadores hemostáticos

A aterosclerose pode estar associada ao desequilíbrio entre coagulação e fibrinólise, fato que pode ser exemplificado pela ação pró-coagulante do fator VII e sua incidência na mortalidade por doenças cardiovasculares (24). Existe uma correlação positiva entre o aumento da concentração do PAI-I com esses eventos (24). Por outro lado, a molécula de HDL inibe a síntese do fator tissular por apresentar o inibidor da via do fator tecidual (TPFI) em sua molécula, efeito contrário à ação das lipoproteínas ricas em triglicérides, especialmente as VLDL, que estimulam a secreção de fator tissular (24). Além do mais, o HDL tem efeito anticoagulante estimulando a proteína C ativada que é responsável pela inativação dos fatores Va e VIIIa (24).

Quando em níveis plasmáticos reduzidos, o HDL reduz a capacidade protetora associando-se também à fibrinólise como na hipercolesterolemia ou hipertrigliceridemia, situações em que ocorre aumento de secreção de PAI-1 por células endoteliais, sendo que a concentração sérica do HDL reduz à medida que aumenta a concentração do PAI-1 (24).

A aterotrombose é, portanto, dependente dos depósitos de lipídios, da multiplicação celular e de fatores hemostáticos (53).

2.10 Lipoproteína (a) e fibrinólise

Em função da semelhança estrutural da apo(a) presente na Lp(a) com o plasminogênio, a Lp(a) interfere na fibrinólise natural por inibição competitiva do ativador tecidual do plasminogênio (t-PA), dessa forma inibindo a geração de plasmina e a fibrinólise, características que conferem à Lp(a) propriedades pró-aterogênicas (56).

A inibição do sistema fibrinolítico pela Lp(a) não é questionada, no entanto, o mecanismo relacionado com essa inibição ainda é controverso (57).

O gene da apo(a) está localizado no mesmo *cluster* do gene do plasminogênio, situado no braço longo do cromossomo 6, podendo apresentar diversas variantes em seus domínios, fato que levou à hipótese da interferência da Lp(a) no sistema fibrinolítico e o que justificaria a variação nos níveis plasmáticos em uma mesma população (2,3). O polimorfismo genético de tamanho (mais de 30 alelos variando de 300 a 800 KDa), atrelado ao gene da apo(a), indica a apresentação de diferentes isoformas que têm tamanho inversamente proporcional à afinidade pela fibrina e, portanto, podem ser consideradas como fator de risco diferente para doença arterial coronariana (2).

O gene da apo (a), especialmente um polimorfismo de tamanho no kringle IV-tipo 2 pode determinar a concentração da Lp(a) e assim interferir na susceptibilidade dos eventos trombóticos (58).

2.11 Hormônios e implicações clínicas

A terapia de reposição hormonal tem sido questionada cada vez mais, se considerados os riscos e benefícios diante das controvérsias na literatura, em relação à demonstração dos hormônios como fator de risco para doenças cardiovasculares em mulheres menopausadas (10,59).

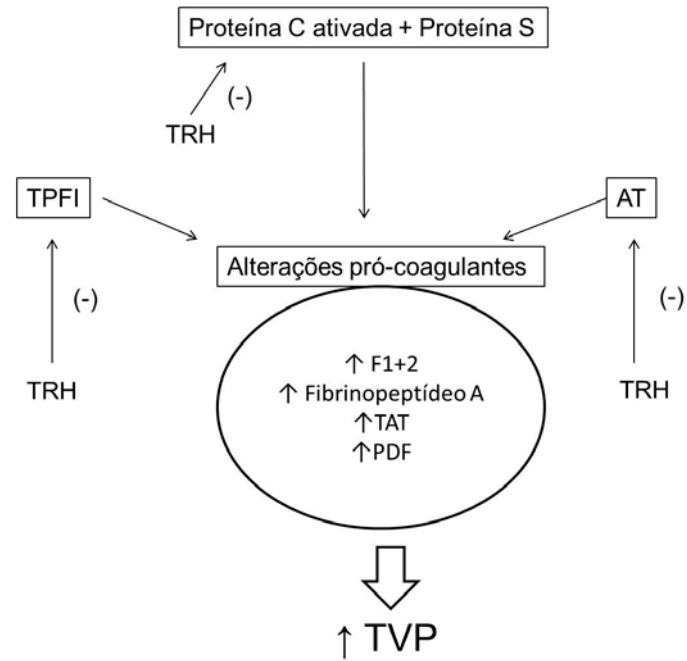
A queda acentuada no nível de estrogênio na menopausa aumenta o risco de doenças cardiovasculares, sendo assim, a TRH pode apresentar uma tendência de efeito cardioprotetor considerando-se o benefício no perfil lipídico (59). A redução do estrogênio favorece o aumento da Lp(a), o que também eleva esse risco (34). No entanto, a TRH pode desfavorecer a anticoagulação natural ao reduzir os níveis de antitrombina (AT), proteína C ativada (PCa) e proteína S favorecendo desse modo o estado de hipercoagulabilidade, além de reduzir o TFPI (inibidor da via do fator tissular) que impediria a ativação da via extrínseca da cascata de coagulação, elevando-se assim os marcadores da coagulação como o F1+2, fibrinopeptídeo A, complexo trombina-antitrombina (TAT) e os produtos de degradação da fibrina (PDF) **(Figura 3)** (60).

Nas camadas que constituem os vasos sanguíneos existe um número expressivo de receptores para o estrogênio e progestogênios, tornando-se assim, um complicador nessa dinâmica entre hormônios e doenças cardiovasculares (9). O etinilestradiol, utilizado amplamente nos contraceptivos orais (CO), aumenta a geração de trombina, fibrinogênio e os fatores VII, VIII, IX, X XII e XIII da coagulação, além de reduzir os níveis da antitrombina e de proteína C, dois anticoagulantes naturais (8), deixando clara a associação dos contraceptivos orais combinados com o aumento do risco de trombose e eventos cardiovasculares, principalmente pelo aumento da estase sanguínea e do estado de

hipercoagulabilidade da usuária (8,9). Essa interferência hemostásica pode ser relacionada com a formulação de cada CO, que varia de acordo com a geração. Os CO de primeira geração apresentam elevadas concentrações de estrogênio e um progestágeno dito “antigo” por terem sido os primeiros a serem lançados no mercado, como por exemplo, o acetato de ciproterona. Os de segunda geração apresentam o mesmo tipo de progestágeno associados a concentrações reduzidas de estrogênio enquanto os de terceira geração apresentam concentrações reduzidas de estrogênio associadas a novos progestágenos, por exemplo, a drospirenona. O estrogênio é capaz de ativar a coagulação e o progestágeno modula a ativação da fibrinólise também realizada pelo estrogênio. Portanto os CO de primeira geração, com altas concentrações de estrogênio, apresentam uma maior ativação da coagulação quando comparado com os demais, mas também uma intensa ativação da fibrinólise na tentativa de compensar o equilíbrio hemostático. Os de segunda geração, com concentrações reduzidas de estrogênio ativam menos a coagulação e têm uma compensação melhor que os de terceira geração na ativação da fibrinólise por não terem sofrido alteração no progestágeno como os de terceira geração, no entanto, em todos os tipos, a ativação da fibrinólise não se equipara a ativação da coagulação e a usuária permanece em um estado hipercoagulável (**Figura 4**) (61).

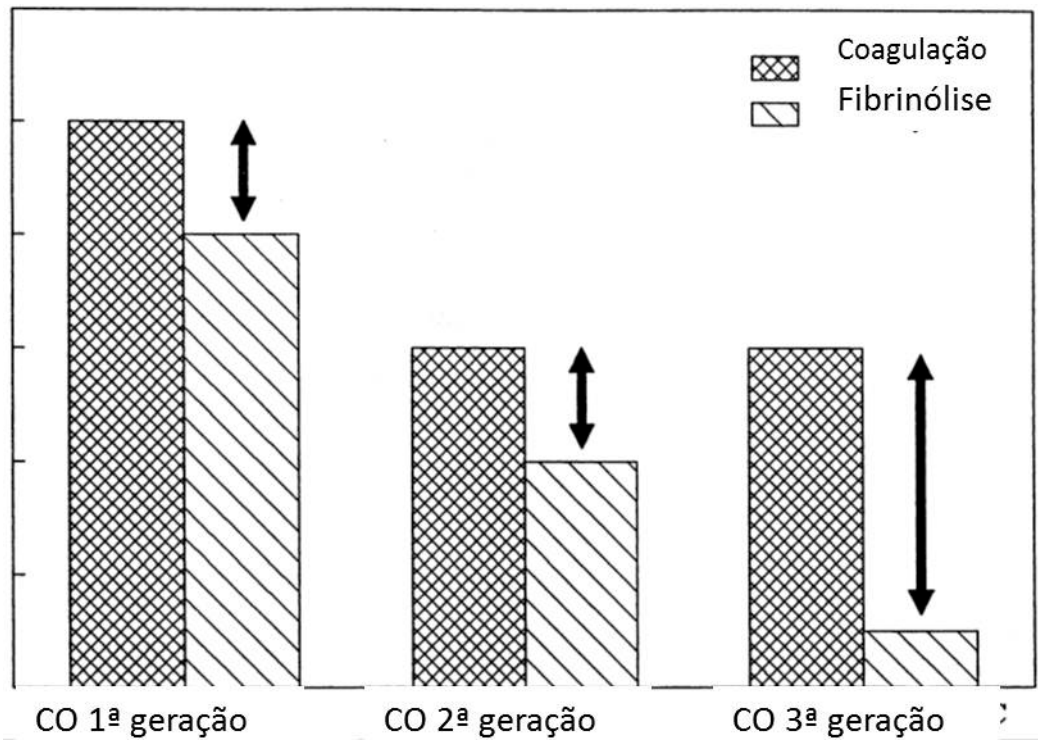
A predisposição trombogênica extrínseca conta com uma resposta individual ao uso de terapia hormonal, transfusão de sangue e ao uso de anovulatórios (53).

Figura 3 – TRH e sistema anticoagulante em mulheres com alto risco para TVP



*CANO, A. *et.al.* **The mechanisms of thrombotic risk induced by hormone replacement therapy (Product Review)**. 2001, Vol.40(1), pp.17-38, Maturitas (Adaptado).

Figura 4 – Representação esquemática do grau de ativação da coagulação e fibrinólise induzido por contraceptivo oral de gerações diferentes



* LEVI, M. *et.al.* Oral contraceptives and hormonal replacement therapy cause an imbalance in coagulation and fibrinolysis which may explain the increased risk of venous thromboembolism. 1999;41(1):21-4, Cardiovasc Res. (Adaptado).

3 JUSTIFICATIVA

As doenças cardiovasculares constituem uma das principais causas de morte entre as mulheres no Brasil (62,63). Níveis elevados de Lp(a), alterações no sistema fibrinolítico e idade, bem como o uso de hormônios podem ser considerados fatores de risco para tais eventos. Até o momento, mesmo sabendo do grande impacto da Lp(a) na aterogênese, sua dosagem não faz parte dos protocolos de rotina do perfil lipídico. Cerca de 35% dos casos de eventos ateroscleróticos ocorrem em pacientes que não apresentam os fatores de risco clássicos para doença arterial coronariana como, por exemplo, a idade, sexo, diabetes mellitus, hipercolesterolemia, tabagismo e histórico familiar, o que sugere a participação de outros fatores ainda não conhecidos ou pouco estudados, como a Lp(a) (6).

Diante desse cenário, justifica-se estudar a correlação dos níveis de Lp(a) com os parâmetros do sistema fibrinolítico para avaliar se essa homologia estrutural da Lp(a) com o plasminogênio pode ocasionar uma inibição significativa no sistema fibrinolítico a ponto de alterar os valores do dímero D, um dos principais marcadores de hipercoagulabilidade. Sendo muito utilizado na exclusão de trombose venosa profunda por ter um alto valor preditivo negativo, níveis de D-Di falsamente reduzidos ou normais podem ser erroneamente interpretados, como dado isolado, ou como critério para exclusão de eventos cardiovasculares, quando na verdade poderiam estar relacionados com uma deficiência do sistema fibrinolítico proveniente da interferência de níveis elevados de Lp(a). Para relacionar a possível deficiência do sistema fibrinolítico com a interferência da Lp(a), e não a de outros fatores, justifica-se determinar outros parâmetros que avaliam a competência do sistema fibrinolítico como o ativador tecidual do plasminogênio, inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1, inibidor da fibrinólise ativado pela trombina e o marcador de hipercoagulabilidade fragmento 1+2 da protrombina. Faz-se necessário, ainda, verificar a interferência do uso de hormônios e da idade nas concentrações de Lp(a), pois estes são dois fatores de risco para os quadros patológicos mencionados. Os dados avaliados poderão nortear medidas preventivas e também auxiliar na tomada de decisão na prescrição de hormônios como contraceptivos em mulheres jovens ou na terapia de reposição hormonal nas menopausadas. A Lp(a) poderá ser utilizada

como marcador na classificação de grupos de risco que devem ou não fazer uso da terapia hormonal. Vários estudos na literatura estudam a relação do sistema fibrinolítico com hormônios, outros estudos relacionam a Lp(a) com doenças cardiovasculares, mas estudos que estudam a correlação a Lp(a) com o sistema fibrinolítico comparando a influência hormonal com a idade, ainda são escassos. Neste contexto, se as alterações na fibrinólise se mostrarem significativas em mulheres de diferentes faixas etárias, em uso ou não de hormônios, tais achados poderão contribuir para a elucidação do mecanismo pelo qual o aumento dos níveis de Lp(a) à hipofibrinólise e, conseqüentemente, as doenças cardiovasculares.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar o perfil lipídico, com ênfase na Lp(a) e sua relação com parâmetros hemostáticos em mulheres jovens e na pós-menopausa, em uso ou não de hormônios.

4.2 Objetivos específicos

- a) Caracterizar o perfil lipídico mediante dosagens de Lp(a), apoA, apoB, CT, HDL, LDL, triglicerídeos, índice de Castelli II e relação apoB/apoA
- b) Avaliar os níveis de marcadores de hipercoagulabilidade (F1+2 e D-Di) e fibrinólise (PAI-1 e plasminogênio);
- c) Investigar as diferenças dos perfis lipídicos e hemostáticos entre mulheres jovens e menopausadas, em uso ou não de hormônio;
- d) Investigar se, diante da homologia estrutural da Lp(a) com o plasminogênio, os níveis elevados de Lp(a) interferem ou não nos marcadores do sistema fibrinolítico e da coagulação;
- e) Avaliar os níveis plasmáticos de PCR e investigar sua relação com os perfis lipídicos e hemostáticos;

5 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo, envolvendo mulheres jovens e no pós-menopausa, foi inicialmente submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP-UFMG) (**Anexo A**). Posteriormente à aprovação do COEP- UFMG procedeu-se à seleção das participantes que foram esclarecidas sobre a pesquisa. Aquelas que estavam de acordo em participar assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (**Anexo B**), bem como responderam um questionário com perguntas de interesse médico e da pesquisa (Ficha Clínica) (**Anexo C**). As participantes foram recrutadas sequencialmente da comunidade, incluindo jovens universitárias, professoras e funcionárias da UFMG, amigas e familiares, conforme características descritas a seguir.

5.1 Casuística

O presente trabalho foi composto por 82 mulheres classificadas em quatro grupos:

JP: jovens (18 a 30 anos) em uso de contraceptivo oral (n=20);

JN: jovens (18 a 30 anos) sem uso de contraceptivo oral (n=20);

MP: menopausadas (50 a 60 anos) em uso de terapia de reposição hormonal (n=17) e

MN: menopausadas (50 a 60 anos) sem uso de terapia de reposição hormonal (n=25).

5.2 Critérios de inclusão e de não inclusão:

5.2.1 Critérios de inclusão

- Sexo: mulheres;
- Faixa etária: 18 a 30 anos (jovens) ou de 50 a 60 (menopausadas);
- Uso de hormônios: sim ou não para cada faixa etária (Jovens-CO e menopausadas-TRH).

5.2.2 Critérios de não inclusão:

Doenças hepáticas, hematológicas, inflamatórias agudas, autoimunes, malignas, insuficiência renal crônica, síndrome nefrótica, diabetes mellitus, obesidade (IMC>30), uso de antiagregante plaquetário ou de anticoagulante, doenças tireoidianas, tabagismo, etilista crônico e uso de corticoides, anabolizantes, isotretinoína, ciclosporina, antirretrovirais e anti-inflamatórios não esteroidais, período de pós-menopausa superior a dez anos e gravidez.

As participantes que assinalaram algum dos critérios de não inclusão ao responder o questionário não foram submetidas à coleta do sangue. Uma das menopausadas em uso de hormônios foi excluída do estudo após a coleta de sangue, pois apresentou níveis elevados de glicose por jejum inadequado. Dessa forma, o grupo das MP apresentou um n de 17.

5.3 Amostras biológicas

Foram coletados 15 mL de sangue venoso (5 mL sem anticoagulante, 5 mL em citrato de sódio 3,2% e 5 mL em EDTA), após jejum de 12 horas, em tubos do Sistema Vacutainer® (Becton-Dickinson), de cada participante do estudo que preencheu os critérios de inclusão e assinou o termo de consentimento.

A ordem da coleta seguiu a recomendação do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) a fim de eliminar possíveis interferências. A primeira coleta foi feita no tubo sem anticoagulante, seguida da coleta com tubo contendo citrato de sódio e finalizada com o tubo contendo EDTA.

A coleta de algumas das participantes foi realizada no laboratório de bioquímica clínica da Faculdade de Farmácia da UFMG, outras em domicílio e as demais em laboratório privado de apoio, localizado na cidade de Varginha/MG.

As amostras de sangue obtidas em citrato de sódio foram centrifugadas de acordo com o protocolo estabelecido pelo setor de hematologia clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG para obtenção do plasma pobre em plaquetas. O tubo de coleta foi centrifugado a 3.500 rpm por 15 minutos, os dois terços superiores do sobrenadante transferidos para um tubo de ensaio e uma nova centrifugação realizada a 3.500 rpm por 15 minutos. Apenas os dois terços superiores do sobrenadante foram distribuídos em alíquotas e estocados à -80°C, para posterior determinação dos seguintes parâmetros: PAI-1, F1+2, dímero D e plasminogênio.

As amostras de sangue obtidas sem anticoagulante foram centrifugadas a 1.500 rpm por 15 minutos para separação do soro, distribuídas em alíquotas, tendo sido utilizada uma alíquota para determinação imediata do colesterol total, HDL, triglicérides e glicose. As demais alíquotas foram estocadas a -80°C para a determinação posterior da Lp(a), PCRus, apoA-I e apoB.

As amostras de sangue obtidas com o anticoagulante EDTA tiveram uma alíquota de sangue total reservada antes da separação do plasma por centrifugação. Na sequência foi realizada uma centrifugação a 1.500 rpm por 15 minutos para a obtenção do plasma em EDTA. O sangue total e as alíquotas do plasma também foram estocados a -80°C. Tanto o sangue total quanto o plasma em EDTA foram reservados para determinações em projetos futuros.

No momento da análise, as alíquotas foram descongeladas e processadas de acordo com a indicação de cada fabricante.

5.4 Delineamento experimental

Os seguintes parâmetros foram avaliados neste projeto:

- Colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, colesterol VLDL, triglicerídeos, lipoproteína(a) e apolipoproteínas A-I e B, para avaliação do perfil lipídico convencional e não convencional;
- Glicose em jejum para avaliação do perfil glicêmico;
- Proteína C reativa ultrasensível para avaliação do perfil inflamatório;
- PAI-1, dímero D, plasminogênio e F1+2, para avaliar o sistema fibrinolítico e ativação da cascata de coagulação.

5.5 Métodos

- Colesterol total

A determinação do colesterol total foi realizada no soro utilizando o conjunto diagnóstico COLESTEROL Liquiform - LABTEST ® cujo princípio analítico é o método enzimático colorimétrico de ponto final. O ensaio foi realizado utilizando-se o analisador bioquímico semiautomático da marca THERMO PLATE®, modelo TP Analyzer plus. Segundo o fabricante do kit diagnóstico, é desejável que o valor do colesterol total esteja abaixo de 200 mg/dL.

- Colesterol HDL

A determinação do colesterol HDL foi realizada no soro utilizando o conjunto diagnóstico HDL LE - LABTEST ® cujo princípio analítico é determinação direta

cinética por meio de acelerador-detergente seletivo. O ensaio foi realizado utilizando-se o analisador bioquímico semiautomático da marca THERMO PLATE®, modelo TP Analyzer plus. Segundo o fabricante do kit diagnóstico, é desejável que o valor do HDL esteja superior a 60 mg/dL.

- Colesterol LDL e VLDL

A concentração do LDL plasmático foi estimada utilizando-se um procedimento simplificado descrito por FRIEDEWALD et al. (1972). Neste método, os níveis de CT, TG e HDL previamente determinados e as concentrações obtidas expressas em mg/dL. O VLDL é estimado como o valor de TG plasmático dividido por cinco (TG/5), e o LDL pode ser calculado usando-se a seguinte equação:

$$\text{LDL} = \text{colesterol total} - [\text{HDL} + (\text{TG}/5)]$$

Esta equação não é apropriada para ser usada em amostras nas quais as concentrações de TG excedam 400mg/dL, bem como em presença de quilomícrons e cabe ressaltar que nenhuma das participantes enquadrou-se nessa limitação da fórmula. A sociedade Brasileira de Cardiologia apresenta os seguintes valores de referência para LDL: Ótimo <100 mg/dL, desejável 100-129 mg/dL, limítrofe 130-150 mg/dL, alto 160-189 mg/dL e muito alto \geq 190 mg/dL. O valor do VLDL seja inferior a 30 mg/dL (13).

- Triglicérides

A determinação dos triglicerídeos foi realizada no soro utilizando o conjunto diagnóstico TRIGLICÉRIDES Liquiform - LABTEST ® cujo princípio analítico é o método enzimático colorimétrico. O ensaio foi realizado utilizando-se o analisador bioquímico semi-automático da marca THERMO PLATE®, modelo TP Analyzer plus. Segundo o fabricante do kit diagnóstico, é desejável que o valor do triglicérides esteja abaixo de 150 mg/dL.

- Lipoproteína (a)

A determinação da Lp(a) foi realizada no soro utilizando o conjunto diagnóstico INVITRO® LIPOPROTEÍNA(a), cujo princípio analítico é o método turbidimétrico com látex aprimorado, seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante. O ensaio foi realizado utilizando-se o aparelho Cobas Mira Plus® em sistema completamente automatizado. Segundo o fabricante do kit diagnóstico, é desejável que o valor da lipoproteína (a) esteja abaixo de 30 mg/dL.

- Apolipoproteína A-I

A determinação da apolipoproteína A-I foi realizada no soro utilizando o conjunto diagnóstico INVITRO® APOLIPOPROTEÍNA A-I (apoA-I) TURBIDIMETRIA cujo princípio analítico é o imunoensaio turbidimétrico. O ensaio foi realizado utilizando-se o aparelho Cobas Mira Plus® em sistema completamente automatizado. Segundo o fabricante do kit diagnóstico, é desejável que o valor da apo-AI esteja entre 101 e 223 mg/dL.

- Apolipoproteína B

A determinação da apolipoproteína B foi realizada no soro utilizando o conjunto diagnóstico INVITRO® APOLIPOPROTEÍNA B (apoB) TURBIDIMETRIA cujo princípio analítico é o imunoensaio turbidimétrico. O ensaio foi realizado utilizando-se o aparelho Cobas Mira Plus® em sistema completamente automatizado. Segundo o fabricante do kit diagnóstico, é desejável que o valor da apo-B esteja entre 53 e 182 mg/dL.

- Glicose em jejum

A determinação da glicose de jejum foi realizada no soro utilizando o conjunto diagnóstico GLICOSE Liquiform - LABTEST® cujo princípio analítico é o método

enzimático colorimétrico. O ensaio foi realizado utilizando-se o analisador bioquímico semi-automático da marca THERMO PLATE®, modelo TP Analyzer plus. Segundo o fabricante do kit diagnóstico, é desejável que o valor da glicose esteja entre 60 e 99 mg/dL.

- Proteína C Reativa ultrasensível

A determinação quantitativa da PCRus foi realizada no soro através do uso do conjunto diagnóstico hsCRP - VITROS®, cujo princípio analítico é o método turbidimétrico com látex aprimorado-química seca. O ensaio foi realizado utilizando-se o aparelho ORTHO CLINICAL DIAGNOSTICS-Johnson&Johnson Company, em sistema completamente automatizado. Segundo o fabricante do kit diagnóstico, é desejável que o valor da PCRus esteja abaixo de 10 mg/L.

- PAI-1

A determinação do PAI-1 plasmático foi realizada em plasma citratado, utilizando o conjunto diagnóstico IMUBIND® Plasma PAI-1 ELISA (Sekisui Diagnostics®), cujo princípio analítico é o ensaio imunoenzimático (ELISA) de captura, seguindo as instruções de uso fornecidas pelo fabricante. A leitura do teste foi realizada no aparelho SPECTRA MAX®340PC384 MICROPLATE READER. Segundo o fabricante do kit diagnóstico, é desejável que o valor do PAI-1 esteja entre 2 e 47 ng/mL.

- F 1 + 2

A determinação do F 1+2 plasmático foi realizada no plasma citratado utilizando o conjunto diagnóstico ENZYGNOST F 1+2 monoclonal (Dade Behring®), cujo princípio analítico é o ensaio imunoenzimático (ELISA) de captura, seguindo as instruções de uso fornecidas pelo fabricante. A leitura do teste foi realizada no

aparelho SPECTRA MAX®340PC384 MICROPLATE READER. Segundo o fabricante do kit diagnóstico, é desejável que o valor do F1+2 esteja entre 69 e 229 pmol/L.

- Dímero D

A determinação do dímero D plasmático foi realizada em plasma citratado, utilizando o conjunto diagnóstico Vidas® D-Dimer exclusion II, cujo princípio analítico é o ensaio imunoenzimático pela técnica ELFA (*Enzyme linked fluorescent assay*), seguindo as instruções de uso fornecidas pelo fabricante. A leitura do teste foi realizada no aparelho miniVidas®. Segundo o fabricante do kit diagnóstico, é desejável que o valor do D-Di seja inferior a 500 ng/mL.

- Plasminogênio

A determinação do plasminogênio plasmático foi realizada em plasma citratado, utilizando o conjunto diagnóstico GLU PLASMINIGEN ELISA (Sekisui Diagnostics®), teste utilizado apenas na pesquisa, cujo princípio analítico é o ensaio imunoenzimático (ELISA) de captura, seguindo as instruções de uso fornecidas pelo fabricante. A leitura do teste foi realizada no aparelho SPECTRA MAX®340PC384 MICROPLATE READER. Segundo o fabricante do kit diagnóstico, é desejável que o valor do plasminogênio esteja entre 60 e 250 µg/mL.

5.6 Análise estatística

Inicialmente, foram realizadas comparações, pelo teste de Mann-Whitney, entre as medianas das variáveis quantitativas para os três pares de grupos: JN x JP, MN x MP e JN x MN. A comparação dos grupos JP x MP não foi realizada uma vez que as terapias não são comparáveis. Os resultados para as variáveis CT, HDL, LDL, TG,

Lp(a), apoA-I, apoB, PAI-1, F1+2, D-Di, PCRus e Plasminogênio são apresentados como mediana e intervalo interquartilico (percentis 25 e 75). A diferença entre as medianas destas variáveis nos grupos comparados foi considerada estatisticamente significativa se valor $p < 0,05$.

Posteriormente, foi realizada uma análise de correlação em cada um dos grupos separadamente e também para todas participantes em conjunto. Considerou-se o coeficiente de correlação linear de Pearson maior ou igual a 0,8 com valor $p < 0,02$, como indicador de uma correlação forte. Adicionalmente, comparou-se o índice de Castelli II (LDL/HDL) e as relações apoB/apoA-I, PAI-1/D-Di, e Lp(a)/Plasminogênio.

Para a análise estatística, foram utilizados os programas MINITAB versão 15.0 e Prisma PAD.

6 RESULTADOS

Para o perfil lipídico convencional, foram observadas diferenças significativas para as concentrações de CT, em mg/dL, entre os grupos JN x JP, MN x MP e; JN x MN; para o HDLc diferenças significativas foram encontradas entre os grupos JN x MN; e para o LDLc entre os grupos MN x MP e JN x MN. Para o VLDLc e triglicerídeos houve diferenças significativas entre os grupos JN x JP e; JN x MN. (Tabela 1a e 1b).

Tabela 1a – Resultados do perfil lipídico, em mg/dL, dos marcadores bioquímicos CT, HDL e LDL

Grupo (n)	CT	p	HDL	p	LDL	p
JN (20)	156,00 (134,25-172,75)	0,0144	67,00 (49,03-71,00)	0,1556	84,00 (52,70-97,05)	0,4570
JP (20)	173,00 (162,00-192,75)		72,50 (60,10-79,75)		84,80 (75,05-100,85)	
MN (25)	202,00 (175,50-245,50)	0,0416	47,20 (38,25-56,30)	0,3496	131,50 (108,70-148,40)	0,0083
MP (17)	177,00 (161,50-237,50)		51,60 (37,75-66,00)		95,80 (87,80-128,70)	
JN (20)	156,00 (134,25-172,75)	0,0001	67,00 (49,03-71,00)	0,0309	84,00 (52,70-97,05)	0,0001
MN (25)	202,00 (175,50-245,50)		47,20 (38,25-56,30)		131,50 (108,70-148,40)	

Tabela 1b – Resultados do perfil lipídico, em mg/dL, dos marcadores bioquímicos VLDL e TG

Grupo (n)	VLDL	p	TG	p
JN (20)	14,30 (12,65-16,40)	0,0007	71,50 (63,25-82,00)	0,0007
JP (20)	18,90 (16,15-24,75)		94,50 (80,75-123,75)	
MN (25)	21,00 (16,40-31,80)	0,8778	105,00 (82,00-159,00)	0,8778
MP (17)	23,60 (18,20-27,10)		118,00 (91,00-135,50)	
JN (20)	14,30 (12,65-16,40)	0,0001	71,50 (63,25-82,00)	0,0001
MN (25)	21,00 (16,40-31,80)		105,00 (82,00-159,00)	

* CT= colesterol total; HDL= lipoproteína de alta densidade; LDL= lipoproteína de baixa densidade; VLDL= lipoproteína de muito baixa densidade; TG= triglicérides. JP= Jovens em uso de contraceptivos oral; JN= Jovens não em uso de contraceptivos orais; MP= Menopausadas em uso de terapia de reposição hormonal; MN= Menopausadas não em uso de terapia de reposição hormonal. n= Número de componentes no grupo. Teste de Mann-whitney (valores expressos como mediana e intervalo interquartilico: Q1-Q3). Valores-p do teste ao nível de 5% de significância.

Quanto ao perfil lipídico complementar, diferenças significativas para as variáveis apoA-I x apoB, mg/dL, entre os grupos JN x JP e, para os grupos JN x MN foram observadas. Ao contrário, não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações de Lp(a) para nenhum dos grupos em estudo (**Tabela 2**).

Tabela 2 – Resultados do perfil lipídico complementar (mg/dL) para os marcadores bioquímicos Lp(a), apoA-I e apoB

Grupo (n)	Lp(a)	<i>p</i>	apoA1	<i>p</i>	apoB	<i>p</i>
JN (20)	21,95 (9,40-51,97)	0,9892	140,00 (123,25-149,75)	0,0001	74,50 (65,00-81,75)	0,0014
JP (20)	19,05 (8,85-42,58)		176,00 (155,75-217,25)		88,50 (76,75-102,75)	
MN (25)	22,10 (10,95-66,05)	0,1956	153,00 (140,00-174,50)	0,3836	101,00 (79,00-118,50)	0,2139
MP (17)	12,70 (3,60-52,05)		168,00 (135,00-190,00)		84,00 (76,50-106,50)	
JN (20)	21,95 (9,40-51,97)	0,4932	140,00 (123,25-149,75)	0,0086	74,50 (65,00-81,75)	0,0003
MN (25)	22,10 (10,95-66,05)		153,00 (140,00-174,50)		101,00 (79,00-118,50)	

*Lp(a)= lipoproteína(a); apoA-I= apolipoproteína A-I; apoB= apolipoproteína B. JP= Jovens em uso de contraceptivos orais; JN= Jovens não em uso de contraceptivos orais; MP = Menopausadas em uso de terapia de reposição hormonal; MN= Menopausadas não em uso de terapia de reposição hormonal. n= Número de componentes no grupo. Teste de Mann-whitney (valores expressos como mediana e intervalo interquartilico: Q1-Q3). Valores-p do teste ao nível de 5% de significância.

Quanto aos marcadores hemostáticos, foi observada diferença significativa para o marcador hemostático entre os grupos JN x JP para o marcador F1+2, em pmol/L. Em relação aos grupos JN x MN, todos os marcadores hemostáticos foram significativos, inclusive o Di D, em ng/mL e o PAI-1, em ng/mL. Para o plasminogênio, µg/mL, todos os grupos apresentaram diferenças significativas exceto o grupo MN e MP (**Tabela 3**).

Tabela 3 – Resultados dos marcadores hemostáticos PAI-1, F1+2, D-Di e Plasminogênio

Grupo (n)	PAI-1	<i>p</i>	F1+2	<i>p</i>	Di D	<i>p</i>	Plasminogênio	<i>p</i>
JN (20)	33,55 (17,05-42,33)	0,3438	218,30 (176,40-278,00)	0,0009	156,10 (128,80-282,60)	0,0679	64,75 (60,88-67,72)	0,0001
JP (20)	21,90 (15,95-37,88)		385,50 (283,80-628,40)		234,60 (188,70-311,80)		73,45 (72,10-75,10)	
MN (25)	50,00 (32,70-75,65)	0,5053	378,70 (285,60-517,00)	0,6631	328,80 (225,40-510,50)	0,4420	61,60 (59,70-62,90)	0,9082
MP (17)	61,20 (38,65-68,60)		374,80 (308,10-458,80)		278,60 (208,20-339,50)		61,20 (55,75-66,25)	
JN (20)	33,55 (17,05-42,33)	0,0136	218,30 (176,40-278,00)	0,0001	156,10 (128,80-282,60)	0,0004	64,75 (60,88-67,72)	0,0102
MN (25)	50,00 (32,70-75,65)		378,70 (285,60-517,00)		328,80 (225,40-510,50)		61,60 (59,70-62,90)	

*PAI-1= inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1; F1+2= fragmento 1+2 da protrombina; D-Di = dímero D e plasminogênio em, ng/mL, pmol/L, ng/mL, µg/mL respectivamente. JP = Jovens em uso de contraceptivos oral; JN= Jovens não em uso de contraceptivos orais; MP= Menopausadas em uso de terapia de reposição hormonal; MN= Menopausadas não em uso de terapia de reposição hormonal. n= Número de componentes no grupo. Teste de Mann-whitney (valores expressos como mediana e intervalo interquartilico: Q1-Q3). Valores-p do teste ao nível de 5% de significância.

As concentrações, em mg/L, para a proteína C reativa ultrasensível, marcador de inflamação e do risco cardíaco, apresentaram diferenças significativas entre os grupos JN x JP e; JN x MN. (**Tabela 4**).

Tabela 4 – Resultados da PCRus, em mg/L.

Grupo (n)	PCRus	<i>p</i>
JN (20)	2,50 (2,00-6,00)	0,0002
JP (20)	6,50 (4,00-9,75)	
MN (25)	7,00 (5,00-11,00)	0,7390
MP (17)	7,00 (4,00-12,00)	
JN (20)	2,50 (2,00-6,00)	0,0001
MN (25)	7,00 (5,00-11,00)	

*PCRus= proteína C reativa ultrasensível. JP = Jovens em uso de contraceptivos oral; JN= Jovens não em uso de contraceptivos orais; MP = Menopausadas em uso de terapia de reposição hormonal; MN= Menopausadas não em uso de terapia de reposição hormonal. n= Número de componentes no grupo. Teste de Mann-whitney (valores expressos como mediana e intervalo interquartilico: Q1-Q3). Valores-p do teste ao nível de 5% de significância.

Para o Índice de Castelli II (LDL/HDL), diferenças significativas foram observadas nos grupos MN x MP e JN x MN. Para as demais relações calculadas (apoB/apoA-I, PAI-1/D-Di e Lp(a)/Plasminogênio) não se observou diferença significativa (**Tabela 5**).

Tabela 5 – Resultados do Índice de Castelli II e demais relações.

Grupo (n)	LDL/HDL	<i>p</i>	apoB/apoA1	<i>p</i>	PAI-1/DiD	P	Lp(a)/PLASMINOG	<i>p</i>
JN (20)	1,18 (0,81-2,24)	0,9246	0,52 (0,47-0,60)	0,3235	0,14 (0,10-0,21)	0,0810	0,30 (0,15-0,80)	0,7764
JP (20)	1,20 (0,99-1,45)		0,50 (0,37-0,63)		0,10 (0,06-0,17)		0,25 (0,12-0,59)	
MN (25)	2,71 (2,05-3,61)	0,0429	0,62 (0,47-0,81)	0,1306	0,14 (0,12-0,21)	0,3698	0,36 (0,18-1,04)	0,2001
MP (17)	1,86 (1,35-3,11)		0,52 (0,47-0,62)		0,16 (0,13-0,25)		0,21 (0,06-0,82)	
JN (20)	1,18 (0,81-2,24)	0,0001	0,52 (0,47-0,60)	0,0932	0,14 (0,10-0,21)	0,8640	0,30 (0,15-0,80)	0,3792
MN (25)	2,71 (2,05-3,61)		0,62 (0,47-0,81)		0,14 (0,12-0,21)		0,36 (0,18-1,04)	

*Índice de Castelli II= LDL/HDL; apoB/apoA-I= apolipoproteína B /apolipoproteína A-I; PAI-1/D-Di= inibidor do ativador do plasminogênio-1/Dímero D e Lp(a)/Plasminogênio)= Lipoproteína A/ Plasminogênio. JP= Jovens em uso de contraceptivos orais; JN= Jovens não em uso de contraceptivos orais; MP= Menopausadas em uso de terapia de reposição hormonal; MN= Menopausadas não em uso de terapia de reposição hormonal. n= Número de componentes no grupo. Teste de Mann-whitney (valores expressos como mediana e intervalo interquartilico: Q1-Q3). Valores-p do teste ao nível de 5% de significância.

Na análise de correlação entre os pares de variáveis considerando-se um único grupo (n=82), não se observou correlações fortes (coeficiente de Pearson $\geq 0,8$ com $p < 0,02$). Isto significa que não há interferência de uma variável sobre a outra: os valores de uma variável não aumentam nem diminuem em função dos valores da outra variável.

No entanto, no grupo JN (n=20), encontrou-se correlação forte e significativa entre as variáveis F1+2 e TG e entre as variáveis F1+2 e VLDL; e, no grupo MN (n=25), entre as variáveis apoB e CT e entre as variáveis apoB x LDL (**Tabela 6**). Nenhuma justificativa plausível para a correlação entre o F1+2 e TG, bem como entre o F1+2 e VLDL, foi encontrada na literatura.

Tabela 6 – Resultados dos coeficientes de correlação linear de Pearson, $r \geq 0,8$ e $p < 0,02$

Grupos	Variáveis	n	r	p
JN	F1+2 e TG	20	0,824	0,001
JN	F1+2 e VLDL	20	0,824	0,001
MN	apoB e CT	25	0,877	0,001
MN	apoB e LDL	25	0,835	0,001

*F1+2= fragmento 1+2 da protrombina; apoB= apolipoproteína B; TG= triglicérides; VLDL= lipoproteína de muito baixa densidade; CT= colesterol total; LDL= lipoproteína de baixa densidade. J= Jovens não em uso de contraceptivos orais; MN= Menopausadas não em uso de terapia de reposição hormonal. n= Número de componentes no grupo.

Tabela 7a – Percentual (%) de participantes com resultados fora do valor de referência para os parâmetros lipídicos e hemostáticos analisados

GRUPO	CT	HDL	LDL	VLDL	TG	Lp(a)	apoA	apoB
JP	15	20	25	5	5	40	15	0
JN	5	40	20	5	5	40	0	0
MP	24	59	41	6	6	29	6	0
MN	52	68	80	28	28	44	0	4

Tabela 7b – Percentual (%) de participantes com resultados fora do valor de referência para os parâmetros lipídicos e hemostáticos analisados

GRUPO	PAI-1	F1+2	DiD	PCRus	PLASM.	CAST.	apoB/apoA
JP	15	80	10	25	0	0	0
JN	15	45	5	0	15	10	0
MP	59	94	12	35	47	29	0
MN	48	100	24	36	24	44	12

* CT= colesterol total; HDL= lipoproteína de alta densidade; LDL= lipoproteína de baixa densidade; VLDL= lipoproteína de muito baixa densidade; TG= triglicérides. *Lp(a)= lipoproteína (a); apoA= apolipoproteína A-I; apoB= apolipoproteína B; PAI-1= inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1;

F1+2= fragmento 1+2 da protrombina; D-Di = dímero D; PCRus=proteína C reativa ultrasensível; PLASM.=plasminogênio; CAST.=índice de Castelli II e apoA/apoB= apolipoproteínaA-I/apolipoproteínaB. JP= Jovens em uso de contraceptivos oral; JN= Jovens não em uso de contraceptivos orais; MP= Menopausadas em uso de terapia de reposição hormonal; MN= Menopausadas não em uso de terapia de reposição hormonal.

Ao distribuir as participantes em dois grupos, mulheres com Lp(a) \leq 30 mg/dL e mulheres com Lp(a) $>$ 30 mg/dL, e comparar as medianas dos marcadores, não observou-se diferença significativa a 5%, apenas no D-Di a 10%. Também não houve diferenças significativas nas concentrações de Lp(a) para o grupo com Lp(a) $>$ 30 mg/dL, entre os grupos JNxJPxMNxMP; JNxJP; Jovens x menopausadas; participantes sem uso de hormônios x com uso de hormônios; e sem hormônios x em uso de CO x em uso de TRH.

A dosagem de glicose foi realizada apenas para comprovação e inclusão das participantes que apresentaram valores dentro dos valores de referência conforme anexo D (**Tabela 8**)

Tabela 8 – Resultados da glicose sérica, em mg/dL

Grupo (n)	Glicose	<i>p</i>
JN (20)	73,50 (69,00-80,00)	0,6359
JP (20)	75,00 (70,25-79,00)	
MN (25)	89,00 (82,50-93,50)	0,2876
MP (17)	84,00 (80,00-91,00)	
JN (20)	73,50 (69,00-80,00)	0,0001
MN (25)	89,00 (82,50-93,50)	

JN= Jovens não em uso de contraceptivos orais; MP= Menopausadas em uso de terapia de reposição hormonal; MN= Menopausadas não em uso de terapia de reposição hormonal. n= Número de componentes no grupo. Teste de Mann-whitney (valores expressos como mediana e intervalo interquartilico: Q1-Q3). Valores-p do teste ao nível de 5% de significância.

7 DISCUSSÃO

7.1 Perfil lipídico convencional

O uso de hormônios impactou de forma diferente entre as mulheres jovens e as menopausadas, tendo sido observadas diferenças tanto nos resultados dos biomarcadores quanto no tipo de interferência (positiva ou negativa). Jovens em uso de contraceptivos orais apresentaram valores de CT, VLDL e TG significativamente mais elevados quando comparados com não usuárias, enquanto os hormônios utilizados na TRH interferiram apenas nos níveis do CT e LDL de modo a reduzi-los, sugerindo um efeito desfavorável dos contraceptivos e protetor da TRH.

O efeito protetor da TRH também foi sugerido por Soma *et. al* (1991), investigou o efeito da TRH (estrogênio-progestagênio) sobre as concentrações plasmáticas de Lp(a) em 30 menopausadas com média de idade de 53 anos. As coletas foram realizadas no momento zero, após 6 meses e no 12º mês, e foi possível concluir que a TRH (estrogênio-progestagênio) pode reduzir o risco cardiovascular por elevar o HDL e reduzir o LDL (62).

O efeito negativo dos contraceptivos orais foi observado no estudo de Santos *et. al* (2008), que buscou avaliar os seus efeitos sobre os lípidos em 20 mulheres que utilizavam CO (JP) e que não utilizavam (JN) com idade média de 23,5 anos. Estes autores reportaram que as concentrações plasmáticas, em mg/dL, de triglicérides (JP= 148,JN=74) e de colesterol (JP= 219,JN=156) do grupo que utilizava CO foram superiores às do grupo controle (63).

No presente estudo, os CO utilizados pelas voluntárias do grupo JP variaram entre etinilestradiol/acetato de ciproterona, etinilestradiol/clormadinona, etinilestradiol/desogestrel, etinilestradiol/drospirenona, etinilestradiol/gestodeno e etinilestradiol/levonorgestrel (**Anexo E**). Não foi possível estratificar o grupo JP em subgrupos classificados de acordo com o princípio ativo, pois o n (número amostral) de cada subgrupo seria muito reduzido para uma análise estatística satisfatória, impossibilitando assim, a análise de cada tipo de CO sobre as variáveis em questão.

A análise estatística não contemplou os dados de caracterização clínica das participantes (**Anexo F**).

A idade foi significativa em todos marcadores do perfil lipídico clássico nas mulheres que não utilizam hormônio, tendo sido observada a elevação de todos testes que compõem o perfil lipídico clássico, com exceção do HDL. Por outro lado, no grupo que utilizava o hormônio, alterações significativas foram observadas apenas no HDL e LDL, sendo possível sugerir uma redução no impacto da idade quando o uso do hormônio é indicado.

Consoante ao estudo em questão, Anagnostis *et. al* (2015) trabalhou com um grupo de 515 mulheres não menopausadas e 518 menopausadas que não faziam uso de medicamentos que interferem no metabolismo lipídico e nenhum tipo de hormônio. Estes autores obtiveram como resultado uma elevação nas concentrações dos marcadores do perfil lipídico (CT, LDL, TG) com exceção do HDL nas menopausadas (não em uso de hormônio) quando comparadas com os resultados das não menopausadas (não em uso de hormônio) (64), confirmando o efeito protetor dos estrogênios com o avanço da idade.

7.2 Perfil lipídico complementar

No grupo estudado, a Lp(a) não sofreu interferência da idade e nem do uso de hormônios, contrariando a hipótese inicial do projeto, a qual foi aventada em função de casos isolados que, ao longo do tempo, mostraram aumento substancial na determinação dos níveis de Lp(a). Portanto, a Lp(a) não apresentou diferença significativa em nenhuma das análises e correlações, fato que pode ser justificado pelo seu determinante de cunho genético, sendo grande parte desse, relacionado a um dos seus componentes estruturais, a apoA.

Boerwinkle *et. al.*(1992) após estudar 48 famílias, consideraram que 70 % da variação plasmática da Lp(a) está relacionada à variação no tamanho da apoA e, ainda, reforça a ideia de que as diferenças nas concentrações plasmáticas da Lp(a) são hereditárias e inversas ao número de repetição do *kringle 4* no gene da apoA

(65). Em seu estudo, que correlaciona a variação da concentração plasmática da Lp(a) com o perfil genético da apoA, não observou diferença significativa, assim como no presente estudo, em relação à idade ou à concentração de outras lipoproteínas do plasma nos níveis plasmáticos de Lp(a). Estes autores concluíram que, diante da ausência de influências ambientais e fisiológicas, é possível sugerir que a os níveis de Lp(a) são, em grande parte, determinados geneticamente (65).

GALVANO *et.al.* (2010) reafirma a ocorrência da correlação inversa entre o tamanho da isoforma da apoA e a concentração plasmática da Lp(a), e sugere que essa concentração estaria relacionada com o grau de degradação da apoA antes de sua inserção na molécula de Lp(a), justificando assim concentrações plasmáticas de Lp(a) por ordem genética, por meio do polimorfismo da apoA, mas ainda com mecanismo não totalmente elucidado (3).

Contrariando os dados obtidos no presente estudo, Harukuni *et. al* (2002) concluiu que o envelhecimento eleva a concentração plasmática da Lp(a) especialmente nos fenótipos de baixo (isoformas F, B, S1) e médio (isoforma S2) peso molecular da apoA, sendo que a média da concentração plasmática da Lp(a) diminuiu com o aumento do peso molecular da apoA em cada grupo de idade (20-39, 40 a 59 e 60-88 anos) e aumentou com o envelhecimento em cada grupo fenotípico (66). Harukuni *et. al* (2002) extrapolou a genética e mencionou que a média das concentrações plasmáticas de Lp(a) aumentam com a idade independente do fenótipo (66).

Nago *et.al.* (1995), em estudo que contou com a participação de 1762 mulheres acima de 30 anos, observou que níveis de Lp(a) são alterados por alguns fatores como IMC, sexo e idade; e que não correlaciona-se com o perfil lipídico (67). Em concordância parcial com o estudo anterior, Jenner *et.al.* (1993) estudou um grupo de 1394 mulheres, tendo verificado também uma associação significativa entre a Lp(a) e a idade (20-70 anos), no entanto, não verificou associação entre Lp(a) e IMC. O grupo também observou valores de Lp(a) 19% acima em mulheres menopausadas quando comparadas com mulheres não menopausadas e esse percentual após correção da idade foi de 8%, no entanto, tais valores não foram considerados estatisticamente significativos (68). Jenner *et.al* (1993), assim como no presente estudo, considerou que o uso do estrógeno não foi impactante na

concentração média plasmática da Lp(a), já que mulheres menopausadas que usam estrógeno e aquelas que não usam estrógeno apresentaram concentrações plasmáticas de Lp(a) muito próximas (19,9 e 18,0 mg/dL, respectivamente) (68).

Contrariamente, o estudo de Soma *et. al* (1991), sugere que o uso de estrogênio-progestagênio nas mulheres menopausadas pode reduzir as concentrações de Lp(a) (62).

Além da questão genética, alguns estudos relacionam o controle dos níveis de Lp(a) com a atividade e/ou expressão dos receptores de LDL. Thiery *et. al* (1988) pesquisou a interferência dos antilipêmicos inibidores da HMG-CoA redutase na Lp(a) por sabidamente serem efetivos na redução do LDL e apoB, uma vez que reduzem a síntese e aumentam os receptores hepáticos do LDL. No entanto, estes autores não observaram diferença significativa nas concentrações de Lp(a) e concluíram a não relação dos níveis de Lp(a) com aumento da atividade de tais receptores (69).

Hofmann *et. al* (1988), em um estudo com camundongos geneticamente modificados, concluíram que o receptor de LDL é capaz de reduzir os níveis plasmáticos da Lp(a). No entanto, estes investigadores não observaram essa relação de forma clara em humanos, pois apesar de verificarem que defeitos nos receptores de LDL aumentariam as concentrações plasmáticas de Lp(a), não observaram alterações nesse marcador nos casos com mutação na apoB-100, uma apolipoproteína imprescindível para ligação da Lp(a) com receptor de LDL. O aumento da atividade do receptor de LDL promovido por alguns fármacos também não parece reduzir os níveis plasmáticos de Lp(a) sendo interessante, portanto, considerar a taxa de síntese de Lp(a) em vez da sua taxa de degradação (70).

Apesar da Lp(a) não ter apresentado associação com nenhum marcador hemostático no presente estudo, cabe mencionar alguns grupos de pesquisadores, como Nago *et.al.* (1995), os quais sugeriram que os níveis de Lp(a) podem ser correlacionados com alguns fatores hemostáticos como o fibrinogênio e o fator VII (67), contrariamente às conclusões de Salomaa *et. al.* (1995) que não correlacionou a Lp(a) com marcadores hemostáticos especialmente o fator VII (71). Estelle's *et. al.* (1999) reportou que níveis elevados de Lp(a) em mulheres menopausadas são

capazes de reduzir a formação de plasmina (72), fato difícil de ser interpretado, uma vez que os valores limites ou elevados ainda são conflitantes.

Ainda considerando-se os hormônios, apenas o uso de contraceptivos hormonais interferiu de forma significativa aumentando tanto os níveis de apoA-I quanto de apoB no presente estudo. Mulheres jovens que faziam uso do hormônio apresentaram medianas maiores quando comparadas com as que não usavam, sinalizando para um aumento do risco e também da proteção. Com o uso da TRH observou-se uma tendência na elevação da apoA-I e redução da apoB, cuja diferença não foi significativa, mas que mais uma vez, poderia enfatizar o papel protetor da TRH no perfil lipídico.

Duvillard et. al (2010), avaliaram o impacto de um CO conjugado (progestágeno e etinilestradiol) sobre a produção de apoB e observaram um aumento na produção de lipoproteínas contendo apoB incluindo VLDL, IDL, LDL (73)

No presente estudo, observou-se um aumento significativo nas apolipoproteínas A e B no grupo de jovens que utiliza hormônio em relação ao grupo que não utiliza; bem como no grupo de mulheres menopausadas que não usa TRH em relação ao grupo de jovens que também não utiliza hormônios, o que sugere o impacto negativo da idade sobre estes componentes do perfil lipídico (**Anexo G**).

7.3 Marcadores hemostáticos

Considerando-se o uso de hormônios, apenas o uso de contraceptivos orais interferiu significativamente, de modo a elevar somente os marcadores hemostáticos F1+2 e plasminogênio, indicando o efeito pró coagulante dos contraceptivos orais hormonais por aumentar os níveis de F1+2, o que reflete o aumento dos níveis de geração de trombina e uma hipofibrinólise com acúmulo de plasminogênio. Com relação aos níveis elevados de plasminogênio, duas hipóteses podem ser aventadas. A primeira seria em decorrência da possível redução de seu uso no sistema fibrinolítico, enquanto a segunda seria por menor produção hepática, sendo

ambas as hipóteses resultantes do uso do CO. Observou-se uma tendência à elevação do D-Di e uma redução no PAI-1, não significativa. Embora ainda dentro dos valores de referência, os níveis mais elevados de D-Di nas jovens em uso de CO, sugerem estado de hipercoagulabilidade, compatível com os níveis também mais elevados de F1+2 (marcador de geração de trombina). O excesso de trombina formada é consequente, provavelmente, ao uso de CO e pode ter ultrapassado a capacidade inibitória da antitrombina na cascata de coagulação resultando em um excesso de fibrina, que é degradada a D-Di. Por outro lado, a tendência à diminuição dos níveis plasmáticos de PAI-1 nas jovens em uso de CO pode ser parte de um processo de defesa do organismo para tornar a fibrinólise mais eficiente, favorecendo uma degradação mais rápida da fibrina formada em função da hipercoagulabilidade resultante do uso de CO.

Cumprido ressaltar que, curiosamente, a TRH, na população estudada, não interferiu de forma significativa em qualquer dos marcadores hemostáticos avaliados.

Sabe-se que a TRH apresenta risco para eventos cardiovasculares especialmente nas mulheres com mutações em genes trombogênicos como fator V Leiden e mutação da protrombina, dentre outros (74). Além do benefício cardioprotetor proporcionado pela TRH com relação ao perfil lipídico, é também descrito na literatura o aspecto negativo do uso de CO por estarem associados a distúrbios hemostáticos que aumentam a possibilidade de eventos tromboembólicos (61).

Levi *et.al.* (1999), propuseram um mecanismo para descrever a associação entre os hormônios e o risco tromboembólico. Segundo, estes autores existe uma associação dose dependente entre os estrógenos presentes nos CO e as alterações na coagulação, incluindo a elevação dos níveis plasmáticos dos fatores VII, X e de fibrinogênio, e redução em até 50% das concentrações dos inibidores, especialmente da proteína S. Ainda observa-se a elevação da trombina, por meio da determinação do F1+2 (assim como demonstrado no estudo) e do complexo trombina/antitrombina (TAT). Na fibrinólise, observa-se uma elevação nos níveis do t-PA, plasminogênio (como encontrado no estudo) e plasmina (61), ou seja, uma fibrinólise estimulada para tentar compensar a formação excessiva de fibrina. Por

outro lado, progestagênios atuam, mesmo com impacto muito reduzido, modulando a ação dos estrógenos na fibrinólise (**Figura 4**) (61).

Salomaa *et. al.* (1995), recrutaram 1202 participantes de 45 a 64 anos a fim de estudar o impacto da TRH em menopausadas. Considerando-se os fatores hemostáticos, as usuárias apresentaram valores reduzidos de fibrinogênio e elevados de plasminogênio quando comparadas com não usuárias (71). Os autores concluem sugerindo uma interferência positiva da TRH na proteção cardiovascular e, talvez negativa, porém ainda obscura nos marcadores hemostáticos (71).

Bonduki *et.al.*(2007) reportou a variação nos níveis de F1+2 em mulheres sob TRH. Estes pesquisadores avaliaram o efeito da TRH em 45 voluntárias que passaram por quatro momentos de coleta sanguínea (antes do tratamento, 3, 6 e 12 meses após) para avaliar alguns parâmetros da coagulação, dentre eles o F1+2. As voluntárias foram distribuídas em três grupos de acordo com o hormônio utilizado na TRH, a saber: (a) estrógenos conjugados oral; (b) associação de estrógenos conjugados orais com medroxiprogesterona ou (c) estradiol transdérmico com medroxiprogesterona. Foi observado um aumento nos níveis de F1+2 em todas as pacientes após três meses de tratamento (0.20 ± 0.25 , 0.26 ± 0.15 , e 0.27 ± 0.14 , para os grupos A, B e C, respectivamente), mas com significância estatística apenas no grupo C (75). Por ser um marcador sensível para avaliação da ativação da coagulação, este aumento de F1+2, mesmo estando dentro dos valores de referência para a população em questão, deve ser considerado para minimizar o risco da indicação de CO e TRH em mulheres com algum perfil trombofílico (**Figura 3**). Por ter um tempo de meia vida longo e ser um bom indicador da geração de trombina, o F1+2 deve ser considerado mesmo que na maioria dos estudos apresente uma elevação discreta (60).

Cano (2001) em sua revisão compilou dados relacionados à ação de hormônios na avaliação do risco trombótico. Este autor concluiu que estrógenos aumentam a fibrinólise por reduzirem os níveis de PAI-1 e, assim, os estrógenos endógenos, a fim de compensar o estado de hipercoagulabilidade provocado pelos hormônios (60).

Uma das limitações do estudo pode estar relacionada com o n amostral, especialmente no grupo das menopausadas em uso de TRH, devido a uma maior dificuldade na captação das participantes, pois existe certa cautela na indicação da TRH. Possivelmente a elevação não significativa nas concentrações de dímero D seria estatisticamente significativa se caso a amostragem fosse maior. Como mencionado por Hoibraaten *et. al.* (2001), cujos autores realizaram um estudo duplo-cego, randomizado e controlado por placebo em mulheres a fim de caracterizar os efeitos do hormônio, as concentrações plasmáticas do dímero D se elevam quando ocorre influência de hormônios (76). Hoibraaten *et. al.* (2001) concluiu que a TRH pode ativar precocemente a coagulação (76).

Kobelt *et. al.* (2013) demonstrou em seu estudo que o estrogênio exerce efeito regulatório estimulante “*in vitro*” sobre o plasminogênio por atuação em regiões sensíveis no gene do plasminogênio. Segundo os autores, esse sistema regulatório parece ser complexo “*in vivo*” e conta com receptores de estrógeno e modulação por outros hormônios que se representem alvos para o mesmo (77). Os autores ainda consideraram, diferentemente dos dados inferidos do presente estudo, que o mesmo efeito poderia ocorrer com a TRH com estrógeno isolado ou em associação com gestodeno (77).

No nosso estudo, a idade foi impactante elevando todos marcadores hemostáticos avaliados no grupo das mulheres que não usam hormônios, com exceção do plasminogênio. Sugere-se um efeito protetor com o passar da idade para as mulheres que fazem uso do hormônio, uma vez que se observou diferença significativa em um número menor de marcadores, tendo ocorrido apenas aumento nos níveis de PAI-1 e redução dos níveis de plasminogênio, assim como ocorreu no grupo que não faz uso de hormônios. Como não é possível separar a interferência do tipo de hormônio e sabendo-se do potencial trombogênico da TRH, julga-se necessário ter cautela na indicação de hormônios para mulheres menopausadas, uma vez que já contam com o impacto negativo da idade (**Anexo H**).

7.4 Glicose e PCR

No presente estudo, a glicose não sofreu qualquer efeito pelo uso dos hormônios, apenas da idade em ambos os grupos.

Lopez *et. al.* (2014) não reportou grandes diferenças no metabolismo de carboidratos nos diferentes tipos de contraceptivos hormonais para mulheres não diabéticas, apesar de considerarem que existem várias diferenças complexas entre as participantes como IMC, tempo de uso, tipo de hormônio, período do ciclo e modo de administração, além de uma dificuldade de padronização, considerando-se tais flutuações entre os estudos para que se consiga ter uma repetição de princípios ativos em estudos diferentes (78). No caso da TRH, Humphries *et.al.* (2003) reportou que o uso do hormônio poderia beneficiar casos de diabetes mellitus tipo 2 (79).

A inflamação, mensurada pela dosagem da PCR, é mais evidente em mulheres em uso de contraceptivos hormonais e, no quesito idade, em mulheres que não fazem uso de hormônio.

Corroborando com o estudo em questão, Cauci *et. al.* (2008) ao avaliar os efeitos hormonais relacionados ao uso de CO sobre a PCR em 277 mulheres com idade média de 23 anos, também encontraram resultados mais elevados em jovens que utilizam contraceptivos orais, tendo as não usuárias 8,65 vezes mais chance de apresentarem valores de PCR mais reduzidos quando comparadas com as usuárias de CO. Supõe-se que esse aumento nos níveis de PCR é devido à atuação direta dos estrógenos na síntese hepática e/ou indireta com a elevação do estresse oxidativo, não sendo na via clássica da resposta de fase aguda (80) (**Anexo I**).

7.5 Índice de Castelli II e demais relações

Com base em nossos resultados, considerando-se o uso de hormônios, dentre as relações analisadas, observou-se uma redução no índice de Castelli II.

Este achado está de acordo com o estudo de Subbiah (2002) que considera a importância da TRH por alterar a relação LDL/HDL, reduzindo nesse ponto o risco cardiovascular (74). Com o uso do contraceptivo oral, os nossos dados não mostraram interferência significativa, mas pressupõe-se que o impacto dos CO difere da TRH talvez por elevar o índice de Castelli, ou seja, elevar o risco cardiovascular. Asari *et. al.* (2014) em um estudo com mulheres em uso ou não de CO, entre 20 e 49 anos de idade, demonstrou uma elevação significativa no índice de Castelli nas usuárias de CO quando comparadas às não usuárias (1.92 ± 0.86 , 1.39 ± 0.56 , respectivamente) (81), o que não foi observado no estudo em questão.

Por outro lado, nossos dados mostraram uma tendência (não significativa) de redução na relação apoB/apoA-I em mulheres menopausadas em uso da TRH, reforçando a ideia do potencial efeito protetor do hormônio sobre o perfil lipídico.

Cumpramos ressaltar que a variável idade elevou significativamente o índice de Castelli II em ambos os grupos, sendo maior essa elevação no grupo de mulheres que não usavam hormônios, em consonância com o que já fora exposto no presente estudo.

Para as demais relações, a idade contribuiu apenas para a elevação no PAI-1/D-Di do grupo em uso de hormônios, reforçando a ideia de um maior impacto da idade na elevação dos níveis de PAI-1, favorecendo a hipofibrinólise, ou seja, a manutenção crescente de fibrina (**Anexo J**).

Por meio dos dados obtidos no presente estudo, não é possível sugerir que diante da homologia estrutural da Lp(a) com o plasminogênio, níveis elevados de Lp(a) interferem no desempenho do sistema fibrinolítico, pois não houve correlação positiva significativa entre Lp(a) e plasminogênio; entre Lp(a) e PAI-1; ou ainda, correlação negativa significativa entre a Lp(a) e D-Di (dados não mostrados).

Finalmente, nenhuma relação foi observada entre níveis elevados de Lp(a) e aumento dos níveis de CT ou de LDL, ou ainda redução dos níveis de HDL, parâmetros comprovadamente predisponentes à aterogênese. Analogamente, também não foi observada qualquer relação entre aumento dos níveis de Lp(a) e aumento dos níveis de F1+2, um importante marcador de hipercoagulabilidade; bem

como entre aumento dos níveis de Lp(a) e alteração dos parâmetros que avaliam o funcionamento do sistema fibrinolítico em mulheres em uso ou não de hormônios, independente da idade, conforme já mencionado acima (dados não mostrados).

Diante do exposto acima, os nossos dados não suportam a hipótese do presente estudo, ou seja, de que níveis aumentados de Lp(a) prejudicariam o funcionamento normal do sistema fibrinolítico, dada a semelhança estrutural entre a Lp(a) e o plasminogênio. Todavia, os nossos dados sinalizam para o avanço da idade como um fator prejudicial à fibrinólise, considerando o aumento significativo nos níveis de PAI-1 em mulheres menopausadas em relação às jovens, ambas não em uso de hormônio (JN x MN; **Tabela 3**). Quanto aos efeitos do hormônio sobre o sistema fibrinolítico, os resultados não foram consistentes, mostrando uma tendência à redução dos níveis de PAI-1 favorecendo à fibrinólise nas mulheres jovens em uso de CO (JN x JP), enquanto as mulheres menopausadas em uso de TRH apresentaram uma tendência ao aumento dos níveis deste marcador (MN X MP), o que favoreceria à hipofibrinólise (**Tabela 3**).

Além do possível impacto positivo nas doenças cardiovasculares, sugere-se uma associação entre o uso de TRH e outros quadros clínicos, podendo ser citados benefícios na osteoporose e nas funções cognitivas; por outro lado, parece ocorrer aumento do risco associado ao câncer de mama e endométrio pelo uso do estrógeno, de tromboembolismo e doenças na vesícula (79).

Com base na Lp(a), a análise dos nossos dados não suportam a recomendação ou não da TRH, uma vez que esta não parece ser influenciada pela idade e nem pelo uso de hormônios (**Tabela 2**). Por outro lado, os níveis de Lp(a) não correlacionaram com qualquer outro parâmetro avaliado neste estudo. Em outras palavras, a dosagem de Lp(a) parece não ter importância na tomada da decisão em relação ao uso de TRH, considerando os marcadores avaliados no presente estudo.

Diante dos efeitos indesejáveis potencialmente provocados pelo uso de CO, suportados por dados da literatura e corroborados pelos obtidos no presente estudo, a indicação do uso de contraceptivos orais deve ser feita após exclusão de outros fatores predisponentes à aterogênese e/ou à trombogênese, após análise do

histórico clínico da paciente. Em caso de uso, seria desejável a monitoração considerando a possível interação entre fatores ambientais e genéticos desconhecidos. Portanto, cada caso deve ser examinado separadamente, pois se os perfis hemostático e/ou lipídico já não são favoráveis à priori, talvez o uso de hormônios não deve ser recomendado. O mesmo raciocínio e orientação se aplicariam às mulheres que almejam iniciar a TRH.

À luz dos dados obtidos e analisados, pode-se inferir que o uso de contraceptivos orais prejudica o perfil lipídico, favorece a inflamação e a coagulação, enquanto a TRH favorece o perfil lipídico e parece minimizar os efeitos negativos da idade sobre a expressão da maioria dos marcadores.

8.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O n amostral pode ter sido uma das limitações do presente trabalho, uma vez que não permitiu a estratificação dos grupos de acordo com a formulação do hormônio utilizado. Essa não padronização da amostragem pode ter interferido nos resultados obtidos.

Por se tratar de uma população saudável, a maioria das participantes apresentou valores de Lp(a) próximos aos limite de referência, o que pode ser considerado uma outra limitação, por talvez não atingir a concentração necessária para competir com o plasminogênio no sistema fibrinolítico e assim não permitir correlações significativas.

Como perspectiva futura é possível sugerir a determinação do fibrinogênio em um estudo futuro do nosso grupo de pesquisa, uma vez que Berg demonstrou uma correlação direta entre níveis de fibrinogênio e níveis de Lp(a), sendo a correlação maior com a idade (3). Também sugere-se aumentar o n amostral e realizar o polimorfismo da apoA para talvez estratificar os resultados de acordo com a apoA. Outra indicação seria realizar um novo estudo com participantes com concentrações de Lp(a) sabidamente elevadas a fim de verificar a interferência da Lp(a) em concentrações realmente elevadas. Por fim, um estudo que verifique a associação dos inibidores da PCSK9 com a redução Lp(a).

9 CONCLUSÕES

Uma análise conjunta dos dados dos perfis lipídico e hemostático nos remete às seguintes afirmativas:

- a) Os níveis de Lp(a) não influenciaram os dados do sistema fibrinolítico e nem sofreram alteração em função do uso de hormônios ou da idade.
- b) O uso de TRH favorece o perfil lipídico, ou seja, contribui para redução do potencial aterogênico, enquanto o perfil hemostático não é alterado significativamente.
- c) O uso de CO em mulheres jovens (CO) parece ter uma tendência aterogênica, enquanto em menopausadas o uso de TRH parece ter uma tendência protetora.
- d) O uso de CO em mulheres jovens (CO) parece ter uma tendência trombogênica, enquanto em menopausadas o uso de TRH parece não influenciar significativamente a trombogênese.
- e) O avanço da idade contribui, por si só, para os potenciais aterogênico e trombogênico.

REFERÊNCIAS

1. MARANHAO, R. C. *et al.* Lipoproteína (a): Estrutura, Metabolismo, Fisiopatologia e Implicações Clínicas. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 103, n. 1, Jul 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2014001900011&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 20 Out. 2014.
2. LIMA, L. M. *et al.* Níveis plasmáticos elevados de lipoproteína(a) correlacionados com a gravidade da doença arterial coronariana em pacientes submetidos à angiografia. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 87, n. 3, Set. 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2006001600006&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 13 set. 2014.
3. GALVANO, F. *et al.* The physiopathology of lipoprotein (a). **Frontiers in Bioscience**, Catania-Itália, S2, p. 866-875, Jun. 2010. Disponível em: <<https://www.bioscience.org/2010/v2s/af/107/fulltext.php?bframe=2.htm>>. Acesso em: 25 ago. 2014.
4. MANSSON, M. *et al.* Lp(a) is not associated with diabetes but affects fibrinolysis and clot structure ex vivo. **Scientific Reports**, Sweden, n. 4, p. 5318, Jun. 2014. Disponível em: <<http://www.nature.com/srep/2014/140617/srep05318/pdf/srep05318.pdf>>. Acesso em: 07 set. 2014.
5. NORDESTGAARD, B. G. *et al.* Lipoproteína(a) as a cardiovascular risk factor: current status. **European Heart Journal**. Oxford, v. 31(23), p. 2844–2853, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3295201/>>. Acesso em: 02 out. 2014.
6. LIMA, L. M. *et al.* Lipoproteína(a) e inibição da fibrinólise na doença arterial coronariana. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**, São José do Rio Preto, v. 28, n. 1, Mar. 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842006000100013&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 07 out. 2014.
7. XAVIER H. T., *et al.* Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 101, p.1-22, 2013. Disponível em: <http://publicacoes.cardiol.br/consenso/2013/V_Diretriz_Brasileira_de_Dislipidemias.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2014.
8. VIEIRA, C.S; OLIVEIRA, L.C.O; SA, M.F.S. Hormônios femininos e hemostasia. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 10, Out. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032007001000008&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 27 ago. 2014.
9. BRITO, M. B; NOBRE, F; VIEIRA, C.S. Contracepção hormonal e sistema cardiovascular. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 96, n. 4, Abr. 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2011000400021&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 01 dez. 2014.
10. CAMPIOLO, D. J; MEDEIROS, S. F. de. Tromboembolismo venoso e terapia de reposição hormonal da menopausa: uma análise clínico-epidemiológica. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, v. 47, n. 5, Out. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302003000500006&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 03 out. 2014.
11. BURITIS, C. A.; ASHOOD, E. R.; BRUNS, D. E; **Tietz, Fundamentos de química clínica**, 6ªed. , Rio de Janeiro, Elsevier, 2008.

11. BURITIS, C. A.; ASHOOD, E. R.; BRUNS, D. E; **Tietz, Fundamentos de química clínica**. 6ªed. , Rio de Janeiro, Elsevier, 2008.
12. POZZATTI, R. R. *et.al.* Investigação de conceitos relativos a lipídeos presentes entre estudantes da Universidade Federal Fluminense, Grupo Interinstitucional e Interdisciplinar de Estudos em Epistemologia, Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <<http://www.nutes.ufrj.br/abrapec/viiienpec/resumos/R0691-2.pdf>>. Acesso em 05 jan. 2016.
13. SCHIAVO, M. *et. al.* Influência da dieta na concentração sérica de triglicerídeos. **J Bras Patol Med Lab**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 4, p. 283-288, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpm/v39n4/18540.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2016.
14. WATSON, A. D.; Lipidomics: A Global Approach to Lipid Analysis in Biological Systems, **Journal of Lipid Research**, Los Angeles, Ago. 2006. Disponível em: <<http://www.jlr.org/content/early/2006/08/10/jlr.R600022-JLR200.full.pdf>>. Acesso em 07 jan. 2016.
15. PRESCOTT, M. *et.al.*; Platelet-activating fator and related lipid mediator. **Ann Rev Biochem**, Salt Lake City, v. 69, p. 419-445, 2000. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302007000300006&lng=en&nrm=iso](http://link.periodicos.capes.gov.br/ez27.periodicos.capes.gov.br/sfxlcl41?ctx_ver=Z39.88-2004&ctx_enc=info:ofi/enc:UTF-8&ctx_tim=2016-01-06T04%3A43%3A54IST&url_ver=Z39.88-2004&url_ctx_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:ctx&rft_id=info:sid/primoxlibrisgroup.com:primox3-Article-gale_ofa&rft_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:article&rft.atitle=Platelet-activating%20factor%20and%20related%20lipid%20mediators.&rft.jtitle=Annual%20Review%20of%20Biochemistry&rft.btitle=&rft.aulast=&rft.auinit=&rft.auinit1=&rft.auinitm=&rft.ausuffix=&rft.au=Prescott,%20Stephen%20M.&rft.aucorp=&rft.date=20000101&rft.volume=69&rft.issue=&rft.part=&rft.quarter=&rft.ssn=&rft.spage=419&rft.epage=&rft.pages=&rft.artnum=&rft.issn=0066-4154&rft.eissn=&rft.isbn=&rft.sici=&rft.coden=&rft_id=info:doi/&rft.object_id=&svc_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:sch_svc&rft.eisbn=&rft_dat=<gale_ofa>67879971</gale_ofa><grp_id>939224968</grp_id><oa></oa>&rft_id=info:oai/&svc.fulltext=yes&req.language=por&gathStatIcon=true>. Acesso em: 06 jan. 2016.16. POLACOW, V. O; LANCHA JUNIOR, A. H.. Dietas hiperglicídicas: efeitos da substituição isoenergética de gordura por carboidratos sobre o metabolismo de lipídios, adiposidade corporal e sua associação com atividade física e com o risco de doença cardiovascular. Arq Bras Endocrinol Metab, São Paulo, v. 51, n. 3, p. 389-400, Abr. 2007. Disponível em: <. Acesso em: 25 nov. 2015.
17. NELSON, D. L.; COX, M.M.. **Lehninger - PRINCIPLES OF BIOCHEMISTRY**, 5ª ed., New York, W.H.F REEMAANN DC OMPANY, 2008. Disponível em: <<https://ia801004.us.archive.org/6/items/LehningersPrinciplesOfBiochemistry5e/Lehninger's%20Principles%20of%20Biochemistry%20-%205e.pdf>>. Acesso em: 05 jan. 2016.
18. FREITAS, L. *et. al.*. Monoglicerídeos: produção por via enzimática e algumas aplicações. **Quim. Nova**, Lorena, v. 31, n. 6, p. 1514-1521, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v31n6/a42v31n6.pdf>>. Acesso em 06 jan. 2016.
19. RESHEF, L.. Glyceroneogenesis and the Triglyceride/Fatty Acid Cycle, **The journal of biological chemistry**, New Jersey, v. 278, n. 33, p. 30413–30416, 2003. Disponível em: <<http://www.jbc.org/content/278/33/30413.full.pdf+html>>. Acesso em: 20 jan. 2016.
20. ZHANG, H. *et.al.*, Cholesterol and lipoprotein metabolism, **Arterioscler Tromb Vasc Biol**, Pennsylvania, v. 34, p. 1791-1794, 2014. Disponível em: <<http://atvb.ahajournals.org/content/34/9/1791.full.pdf+html>>. Acesso em: 05 jan. 2016.
21. BLOCH, K.. The biological synthesis of cholesterol, **Nobel Lecture**, 1964. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1964/bloch-lecture.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2016.

22. MARANHÃO, R.C., Metabolismo dos quilomícrons e risco de desenvolvimento de doença arterial coronária. **Atheros**, São Paulo, v. 13, n. 3, p. 73-76, 2002. Disponível em: <<http://departamentos.cardiol.br/sbc-da/2010/publicacoes/atheros32002/03-Metabolismo%20dos%20quilm%C3%ADcrons.pdf>>. Acesso em: 02 dez 2015.
23. CAMACHO, C. R.C *et al.* Aterosclerose, uma resposta inflamatória. **Arq Ciênc Saúde**, Botucatu, v. 14, n. 1, p. 41-48, 2007. Disponível em: <http://repositorio-racs.famerp.br/racs_ol/vol-14-1/ID205.pdf>. Acesso em: 20 fev. 2016.
24. LIMA, E. S. & COUTO, R. D. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. **J Bras Patol Med Lab**, Manaus, v. 42, n. 3, p. 169-178, Jun. 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpm/v42n3/a05v42n3.pdf>>. Acesso em: 25 nov. 2015.
25. BRUNNER, M. *et al.* Proliferation of macrophages due to the inhibition of inducible nitric oxide synthases by oxidized low- density lipoproteins. **EXCLI Journal**, Vienna- Austria, v. 14, p. 439-451, Mar. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4652638/pdf/EXCLI-14-439.pdf>>. Acesso em: 05 fev. 2016.
26. NOVAK, E. M.; BYDLOWSKI, S. P. Biologia Molecular das dislipidemias. Variação Genética das apolipoproteínas. **Arq Bras Cardiol**, São Paulo, v. 67, n. 6, 1996. Disponível em: <<http://publicacoes.cardiol.br/abc/1996/6706/67060011.pdf>> Acesso em: 08 out. 2015.
27. ASSMANN, G; NOFER, J. R. Atheroprotective effects of high density lipoproteins. **Annu Rev Med**, Alemanha, v. 54, p. 321-41, 2003. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302007000300029&lng=en&nrm=iso](http://link.periodicos.capes.gov.br/ez27.periodicos.capes.gov.br/sfxlcl41?ctx_ver=Z39.88-2004&ctx_enc=info:ofi/enc:UTF-8&ctx_tim=2016-02-05T12%3A32%3A30IST&url_ver=Z39.88-2004&url_ctx_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:ctx&rft_id=info:sid/primoxlibrisgroup.com:primox3-Article-gale_ofa&rft_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:genre=article&rft.atitle=Atheroprotective%20effects%20of%20high-density%20lipoproteins.&rft.jtitle=Annual%20Review%20of%20Medicine&rft.btitle=&rft.aulast=&rft.auinit=&rft.auinit1=&rft.auinitm=&rft.aulast=&rft.aucorp=&rft.date=20030101&rft.volume=54&rft.issue=&rft.part=&rft.quarter=&rft.ssn=&rft.spage=321-341&rft.epage=&rft.pages=&rft.artnum=&rft.issn=0066-4219&rft.eissn=&rft.isbn=&rft.sici=&rft.coden=&rft_id=info:doi/&rft.object_id=&svc_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:sch_svc&rft.eisbn=&rft_dat=<gale_ofa>102224993</gale_ofa><grp_id>901552404</grp_id><oa></oa>&rft_id=info:oai/&svc.fulltext=yes&req.language=por> Acesso em: 02 fev. 2016.</p><p>28. FORTI, N.; DIAMENT, J. Apolipoproteínas B e A-I: fatores de risco cardiovascular?. Rev. Assoc. Med. Bras., São Paulo, v. 53, n. 3, p. 276-282, Jun. 2007. Disponível em: <. Acesso em: 08 out. 2015.
29. McQUEEN, M. *et al.* Lipids, lipoproteins, and apolipoproteins as risk markers of myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): a case-control study. **Lancet**, Canadá, v. 372, p. 224-233, Jul. 2008. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/ez27.periodicos.capes.gov.br/S0140673608610764/1-s2.0-S0140673608610764-main.pdf?_tid=044dbeba-ea18-11e5-a992-0000aacb35f&acdnat=1457982637_d2f03e1ff1e2e0960e74d493579ff8ad>. Acesso em 14 mar. 2016.
30. ZABAGLIA, S. F. C. *et al.* Estudo exploratório da associação entre o perfil lipídico e a densidade mineral óssea em mulheres menopausadas, em hospital de referência de Campinas. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 4, p. 779-786, Out. 1998. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X1998000400019&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 29 fev. 2016.
31. LIMA, L. M. *et al.* Índice apoB/apoA-I e predição de risco cardiovascular. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 88, n. 6, p. e187-e190, Jun. 2007. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2007000600014&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 14 mar. 2016.

32. AZ, Juliana dos Santos *et al.*. Ácidos graxos como marcadores biológicos da ingestão de gorduras. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 19, n. 4, p. 489-500, Ago. 2006. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732006000400008&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 10 maio 2016.

33. EATON, C. B., Traditional and Emerging Risk Factors for Cardiovascular Disease, **Primary Care: Clinics in Office Practice**, USA, v. 32(4), p. 963-976, 2005. Disponível em: < http://ac.els-cdn.com.ez27.periodicos.capes.gov.br/S0095454305000849/1-s2.0-S0095454305000849-main.pdf?_tid=ef6275f4-b3d0-11e5-86d5-0000aab0f6c&acdnt=1452014745_ae62c7bd810d3121ce88bf6838296aee. Acesso em: 05 jan. 2016.

34. BERMUDEZ, V. *et al.* LIPOPROTEIN (a) = Molecular and Epidemiologic basis about its role in cardiovascular diseases. **Rev. Latinoam. Hipertens**, Caracas, v. 3, n. 4, Dez. 2008. Disponível em: <http://www2.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1856-45502008000400003&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 22 Jan. 2015.

35. JORGE, P.A.R.. Endotélio, lípidos e aterosclerose. **Arq Bras Cardiol**, Campinas, v. 68, n. 2, p. 129-134, 1997. Disponível em:< <http://publicacoes.cardiol.br/abc/1997/6802/68020012.pdf>>. Acesso em: 16 fev. 2016.

36. LIMA, L.M.; *et al.* Proteína C-reativa ultra-sensível em pacientes com diagnóstico de doença arterial coronariana estabelecido por angiografia. **J Bras Patol Med Lab**, v. 43, n. 2, p. 83-86, abril 2007, Belo Horizonte. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/%0D/jbpm/v43n2/03.pdf> . Acesso em 25 jun. 2016.

37. FRANCO, R.F. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. **Revista da Faculdade de Medicina da USP**, Ribeirão Preto, v. 34, p. 229-237, Jul./Dez. 2001. Disponível em:< http://revista.fmrp.usp.br/2001/vol34n3e4/fisiologia_coagulacao.pdf>. Acesso em: 17 ago 2014.

38. FERREIRA, Cláudia Natália *et al.* O novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações. **Revis. Bras. Hematol Hemoter**, Belo Horizonte, v. 32, n. 5, p. 416-421, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v32n5/aop101010>>. Acesso em: 07 maio 2016.

39. LIMA, L. M. *et al.* Fragmento 1+2 da protrombina em indivíduos submetidos à angiografia coronariana. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, São José do Rio Preto, v. 27, n.3, Set. 2005. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842005000300010&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 11 ago. 2014.

40. HOFFMANN, M. A.. A cell-base model of coagulation and the role of factor VIIa. **Blood Reviews**, North Carolina, v. 17, s1-s5, 2003a. Disponível em:< http://ac.els-cdn.com.ez27.periodicos.capes.gov.br/S0268960X03900002/1-s2.0-S0268960X03900002-main.pdf?_tid=f76e11ba-239f-11e6-864f-00000aacb360&acdnt=1464308244_533b94096dd16e2f7f9c848dae6b602f>. Acesso em: 20 maio 2016.

41. HOFFMANN, M..Remodeling the blood coagulation cascade. **J thromb and thrombolysis**. Durham, v. 16 (1/2), p. 17-20, 2003b. Disponível em:< http://link-periodicos-capes-gov-br.ez27.periodicos.capes.gov.br/sfxlcl41?frbrVersion=6&ctx_ver=Z39.88-2004&ctx_enc=info:ofi/enc:UTF-8&ctx_tim=2016-05-26T19%3A21%3A45IST&url_ver=Z39.88-2004&url_ctx_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:ctx&rft_id=info:sid/primox.exlibrisgroup.com:primox3-Article-springer_jour&rft_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:article&rft.atitle=Remodeling%20the%20Blood%20Coagulation%20Cascade&rft.jtitle=Journal%20of%20Thrombosis%20and%20Thrombolysis&rft.bttitle=&rft.aulast=Hoffman&rft.auinit=&rft.auinit1=&rft.auinitm=&rft.ausuffix=&rft.au=Hoffman,%20Maur

eane&rft.aucorp=&rft.date=200308&rft.volume=16&rft.issue=1&rft.part=&rft.quarter=&rft.ssn=&rft.spag e=17&rft.epage=20&rft.pages=&rft.artnum=&rft.issn=0929-5305&rft.eissn=1573-742X&rft.isbn=&rft.sici=&rft.coden=&rft_id=info:doi/10.1023/B:THRO.0000014588.95061.28&rft.object _id=&svc_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:sch_svc&rft.eisbn=&rft_dat=%3Cspringer_jour%3ETHRO.0000 014588.95061.28%3C/springer_jour%3E%3Cgrp_id%3E4863569934395445520%3C/grp_id%3E%3C oa%3E%3C/oa%3E&rft_id=info:oai/&svc.fulltext=yes&req.language=por>. Acesso em: 20 maio 2016.

42. MONROE, D.M.; HOFFMANN, M.. The coagulation cascade in cirrosis. **Clin Liver Dis**, Durham, v. 13, p. 1-9, 2009. Disponível em:< http://ac.els-cdn.com.ez27.periodicos.capes.gov.br/S1089326108000998/1-s2.0-S1089326108000998-main.pdf?_tid=3dc6d17c-23a2-11e6-89ae-00000aab0f26&acdnat=1464309221_e1c5986fa754bd53168d368f998ccf8f>. Acesso em 20 maio 2016.

43. FILHO, G.B.; **Bogliolo Patologia**, 7ª ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2006.

44. ZHANG, H. *et al.* Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism is associated with coronary artery disease risk: a meta-analysis. **International Journal of Clinical Experimental Medicine**. China, v. 7, n. 10, p. 3777–3788, 2014. Disponível em:< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4238518/>>. Acesso em: 13 dez. 2014.

45. REIS, C.V. *et al.* Avaliação de coagulação, fibrinólise e proteína C em pacientes de risco e com doenças coronarianas. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro , v. 39, n. 1, 2003. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442003000100003&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 22 jan. 2015.

46. VORMITTAG, R. *et al.* D-Dimer and Prothrombin Fragment 1 _ 2 Predict Venous Thromboembolism in Patients With Cancer: Results From the Vienna Cancer and Thrombosis Study. **J Clin Oncol**, USA, v. 27, n. 25, 2009. Disponível em:< <http://jco-ascopubs-org.ez27.periodicos.capes.gov.br/content/27/25/4124.full.pdf+html>>. Acesso em: 27 fev. 2016.

47. ISHIGAKI, T.. *et al.* Prothrombin fragment 1+2 as a sensitive marker of intraventricular thrombus formation in a patient with dilated cardiomyopathy: comparison with echocardiography. **J Echocardiogr**, Japão, v. 11, p. 29-31, 2013. Disponível em:<[48. SAIGO, M. *et al.* Soluble Fibrin, C-Reactive Protein, Fibrinogen, Factor VII, Antithrombin, Proteins C and S, Tissue Factor, DDimer, and Prothrombin Fragment 1 _ 2 in Men With acute myocardial infarction ≤ 45 years of age. **Am J Cardiol**, USA, v. 94, p. 1410–1413, 2004. Disponível em:<\[http://ac.els-cdn.com.ez27.periodicos.capes.gov.br/S0002914904013013/1-s2.0-S0002914904013013-main.pdf?_tid=2497403a-dd4b-11e5-a74e-00000aacb35e&acdnat=1456575231_c684fa9efc1174722e62f4cdd56703f8\]\(http://ac.els-cdn.com.ez27.periodicos.capes.gov.br/S0002914904013013/1-s2.0-S0002914904013013-main.pdf?_tid=2497403a-dd4b-11e5-a74e-00000aacb35e&acdnat=1456575231_c684fa9efc1174722e62f4cdd56703f8\)>. Acesso em: 28 fev. 2016.](http://link.periodicos.capes.gov.br.ez27.periodicos.capes.gov.br/sfxlcl41?frbrVersion=4&ctx_ver=Z39.88-2004&ctx_enc=info:ofi/enc:UTF-8&ctx_tim=2016-02-27T05%3A56%3A42IST&url_ver=Z39.88-2004&url_ctx_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:ctx&rft_id=info:sid/primoxlibrisgroup.com:primox3-Article-springer_jour&rft_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:&rft.genre=article&rft.atitle=Prothrombin%20fragment%201+2%20as%20a%20sensitive%20marker%20of%20intraventricular%20thrombus%20formation%20in%20a%20patient%20with%20dilated%20cardiomyopathy:%20comparison%20with%20echocardiography&rft.jtitle=Journal%20of%20Echocardiography&rft.bttitle=&rft.aulast=Ishigaki&rft.auinit=&rft.auinit1=&rft.auinitm=&rft.ausuffix=&rft.au=Ishigaki,%20Takako&rft.aucorp=&rft.date=201303&rft.volume=11&rft.issue=1&rft.part=&rft.quarter=&rft.ssn=&rft.spage=29&rft.epage=31&rft.pages=&rft.artnum=&rft.issn=1349-0222&rft.eissn=1880-344X&rft.isbn=&rft.sici=&rft.coden=&rft_id=info:doi/10.1007/s12574-012-0158-5&rft.object_id=&svc_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:sch_svc&rft.eisbn=&rft_dat=<springer_jour>10.1007/s12574-012-0158-5/springer_jour><grp_id>8486343553153986057</grp_id><oa></oa>&rft_id=info:oai/&svc.fulltext=yes&req.language=por>. Acesso em: 28 fev. 2016.</p>
</div>
<div data-bbox=)

49. DUSSE, L. M. S. et. al. Avaliação do dímero D (D-Di) na doença hipertensiva específica da gravidez (DHEG). **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 3, 2003. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/%0D/jbpml/v39n3/16994.pdf>>. Acesso em: 23 fev. 2016.
50. HALABY, R et. al.. D-Dimer elevation and adverse outcomes. **J Thromb Thrombolysis** Boston, v. 39, p. 55–59, 2015. Disponível em: <<http://link-springer-com.ez27.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007%2Fs11239-014-1101-6>>. Acesso em: 23 fev. 2016.
51. MONACHINI, M. Qual o valor do Dímero D no diagnóstico do tromboembolismo pulmonar?. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v. 48, n. 3, p. 189, Set. 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302002000300012&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 25 fev. 2016.
52. FRANCO R.F. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 34, p. 229-237, jul./dez. 2001. Disponível em: < www.revistasusp.br>. Acesso em: 25 fev. 2016.
53. DUQUE, F. L.V., MELLO, N.A.. Trombogênese – Trombofilia. **J Vasc Br**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 2, p. 105-18. 2003. Disponível em: <http://www.medcorp.com.br/medcorp/upload/downloads/Trombogenesis_Trombofilia_20068912322.pdf>. Acesso em: 26 fev. 2016.
54. DUSSE, L.M.S. et al. Revisão sobre alterações hemostáticas na doença hipertensiva específica da gravidez (DHEG). **Jornal Brasileiro de Patologia**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 4, p. 12677-127802. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v37n4/a08v37n4>>. Acesso em: 26 fev. 2016.
55. REIS, C.V. et.al.. Avaliação de coagulação, fibrinólise e proteína C em pacientes de risco e com doenças coronarianas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Rio de Janeiro, v. 39, n. 1, p. 7-13, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v39n1/v39n1a02>. Acesso em: 20 jun. 2016.
56. SACHER, R. A.; McPHERSON, R. A.; **Widmann Interpretação Clínica dos Exames Laboratoriais**, 11ªed., Barueri, Manole, 2002.
57. HANCOCK, M. A. et al. Inhibition of plasminogen activation by lipoprotein (a)-Critical domains in apolipoprotein(a) and mechanism of inhibition on fibrin and degraded fibrin surfaces. **The Journal of Biological Chemistry**, Washington, v. 278, p. 23260-23269, 2003. Disponível em: <<http://www.jbc.org/content/278/26/23260.long>>. Acesso em: 29 ago. 2014.
58. STICCHI, E.; et.al. Apolipoprotein(a) Kringle-IV Type 2 Copy Number Variation Is Associated with Venous Thromboembolism. **Plos One**, v. 11, n. 2, 22 fev 2016. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0149427>. Acesso em: 30 jun 2016
59. GREGORIOU, O. et al. Continuous combined replacement therapy in postmenopausal women: effect on plasma lipoproteins, bone mass and the endometrium. **Hormones**, Atenas-Grécia, v. 1, n. 4, p. 239-244, 2002. Disponível em: < <http://www.hormones.gr/34/article/article.html>>. Acesso em: 29 ago. 2014.
60. CANO, A. et.al. The mechanisms of thrombotic risk induced by hormone replacement therapy (Product Review). **Maturitas**, Valencia-Espanha, v. 40, n. 1, p. 17-38, 2001. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com.ez27.periodicos.capes.gov.br/S0378512201002705/1-s2.0-S0378512201002705-main.pdf?_tid=602f00ca-1b48-11e6-a4b7-00000aacb35d&acdnat=1463391014_365f2d58daf757ba7b210f72ea3c4ba1>. Acesso em 05 maio 2016.
61. LEVI, M. et.al. Oral contraceptives and hormonal replacement therapy cause an imbalance in coagulation fibrinolysis which may explain the increased risk of venous thromboembolism. **Cardiovasc Res**. Amsterdam, v. 41, n. 1, p. 21-4, 1999. Disponível em: <

<http://cardiovascres.oxfordjournals.org/content/cardiovascres/41/1/21.full.pdf>>. Acesso em 30 abr 2016.

62. SOMA, M., R. *et.al.* Plasma Lp(a) concentration after oestrogen and progestagen in postmenopausal women. (Letter.) **Lancet**. USA, v. 337, p. 612, Mar. 1991. Disponível em:<http://ac.els-cdn.com.ez27.periodicos.capes.gov.br/014067369191674J/1-s2.0-014067369191674J-main.pdf?_tid=4c6d4596-1aae-11e6-a17c-00000aacb360&acdnat=1463324839_b030429b51e119f7f07d54c2416b5a8a>. Acesso em: 02 maio 2016.

62. MANSUR, A. P.; FAVARATO, D. Mortalidade por doenças cardiovasculares no Brasil e na região metropolitana de São Paulo: atualização 2011. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v.99, n. 2, Ago. 2012. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2012001100010&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 04 Nov. 2014.

63. SANTOS, M.C.S. *et.al.* Influência do uso de contraceptivos orais nos níveis lipídicos e nas respostas cardiorrespiratórias de mulheres saudáveis e sedentárias. **Rev Bras Fisioter**, São Carlos, v. 12, n. 3, p. 188-94, mai./jun. 2008. Disponível em:<<http://www.scielo.br/pdf/rbfis/v12n3/a06v12n3.pdf>>. Acesso em: 06 maio 2016.

63. BRASIL. Ministério da Saúde. Datasus tecnologia da informação a serviço do SUS. 2011. Disponível:<<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?obitocorr/cnv/obitocorr.def>>. Acesso em: 10 dez 2014.

64. PANAGIOTIS A. *et.al.* Effects of menopause, gender and age on lipids and high-density lipoprotein cholesterol subfractions **Maturitas** Londres, v. 81, p. 62–68, 2015. Disponível em:<<http://www.sciencedirect-com.ez27.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0378512215003102>>. Acesso em: 01 maio 2016.

65. BOERWINKLE E, Leffert *et.al.* Apolipoprotein(a) gene accounts for greater than 90% of the variation in plasma lipoprotein(a) concentrations. **J Clin Invest**, Dallas, v. 90, p. 52- 60, 1992. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC443062/pdf/jcinvest00050-0058.pdf>>. Acesso em: 15 maio 2016.

66. HARUKUNI Akita *et. al.* Effect of ageing on plasma lipoprotein(a) levels. **Ann Clin Biochem** Japão, v. 39, p. 237- 240, 2002. Disponível em:<<http://acb.sagepub.com/content/39/3/237.full.pdf+html>>. Acesso em: 05 maio 2016.

67. NAGO, Kayaba *et. al.* Lipoprotein(a) levels in the Japanese population: influence of age and sex, and relation to atherosclerotic risk factors. **Am J Epidemiol**, Japão, v. 141, p. 815- 21, 1995. Disponível em:< <http://aje.oxfordjournals.org/content/141/9/815>>. Acesso em: 10 maio 2016.

68. Jenner JL, Ordovas *et.al.* Effects of age, sex, and menopausal status on plasma lipoprotein(a) levels: the Framingham offspring study. **Circulation**, Boston, v. 87, p. 1135- 41, 1993. Disponível em:<[http://link-periodicos-capes-gov-br.ez27.periodicos.capes.gov.br/sfxlcl41?frbrVersion=4&ctx_ver=Z39.88-2004&ctx_enc=info:ofi/enc:UTF-8&ctx_tim=2016-05-13T09%3A05%3A18IST&url_ver=Z39.88-2004&url_ctx_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:ctx&rft_id=info:sid/primoxlibrisgroup.com:primox3-Article-medline&rft_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:journal&rft.genre=article&rft.atitle=Effects%20of%20age,%20sex,%20and%20menopausal%20status%20on%20plasma%20lipoprotein\(a\)%20levels.%20The%20Framingham%20Offspring%20Study.&rft.jtitle=Circulation&rft.btitle=&rft.aulast=Jenner&rft.aunit=&rft.aunit1=&rft.aunitm=&rft.ausuffix=&rft.au=Jenner,%20J%20L&rft.aucorp=&rft.date=199304&rft.volume=87&rft.issue=4&rft.part=&rft.quarter=&rft.ssn=&rft.spage=1135&rft.epage=&rft.pages=1135-41&rft.artnum=&rft.issn=0009-7322&rft.eissn=&rft.isbn=&rft.sici=&rft.coden=&rft_id=info:doi/&rft.object_id=&svc_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:sch_svc&rft.eisbn=&rft_dat=%3Cmedline%3E8462142%3C/medline%3E%3Cgrp_id%3E8320](http://link-periodicos-capes-gov-br.ez27.periodicos.capes.gov.br/sfxlcl41?frbrVersion=4&ctx_ver=Z39.88-2004&ctx_enc=info:ofi/enc:UTF-8&ctx_tim=2016-05-13T09%3A05%3A18IST&url_ver=Z39.88-2004&url_ctx_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:ctx&rft_id=info:sid/primoxlibrisgroup.com:primox3-Article-medline&rft_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:journal&rft.genre=article&rft.atitle=Effects%20of%20age,%20sex,%20and%20menopausal%20status%20on%20plasma%20lipoprotein(a)%20levels.%20The%20Framingham%20Offspring%20Study.&rft.jtitle=Circulation&rft.btitle=&rft.aulast=Jenner&rft.aunit=&rft.aunit1=&rft.aunitm=&rft.ausuffix=&rft.au=Jenner,%20J%20L&rft.aucorp=&rft.date=199304&rft.volume=87&rft.issue=4&rft.part=&rft.quarter=&rft.ssn=&rft.spage=1135&rft.epage=&rft.pages=1135-41&rft.artnum=&rft.issn=0009-7322&rft.eissn=&rft.isbn=&rft.sici=&rft.coden=&rft_id=info:doi/&rft.object_id=&svc_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:sch_svc&rft.eisbn=&rft_dat=%3Cmedline%3E8462142%3C/medline%3E%3Cgrp_id%3E8320)>

633668082126792%3C/grp_id%3E%3Ccoa%3E%3C/oa%3E&rft_id=info:oai/&svc.fulltext=yes&req.lan guage=por>. Acesso em 07 maio 2016.

69. THIERY, J. *et.al.* Serum lipoprotein (a) concentrations are not influenced by an HMG CoA reductase inhibitor. **Klin. Wochenschr.** Göttingen, v. 66, p. 462-463, 1988. Disponível em:< http://download.springer.com/static/pdf/96/art%253A10.1007%252FBF01745519.pdf?originUrl=http%3A%2F%2Flink.springer.com%2Farticle%2F10.1007%2FBF01745519&token2=exp=1463318996~acl=%2Fstatic%2Fpdf%2F96%2Fart%25253A10.1007%25252FBF01745519.pdf%3ForiginUrl%3Dhttp%253A%252F%252Flink.springer.com%252Farticle%252F10.1007%252FBF01745519*~hmac=02cfa219dd0a00a978c61173589038930b12c3a50ea013ab5f1ff9b28ca69910>. Acesso em 06 maio 2016.

70. HOFMANN, S. L. *et.al* Overexpression of human low density lipoprotein receptors leads to accelerated catabolism of Lp(a) lipoprotein in transgenic mice. **J. Clin. Invest.** Klahoma, v. 85, p. 1542-1547, 1990. Disponível em:< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC296603/pdf/jcinvest00071-0206.pdf>>. Acesso em: 10 maio 2016.

71. SALOMAA, V. *et.al.* Association of Hormone Replacement Therapy With Hemostatic and Other Cardiovascular Risk Factors: The FINRISK Hemostasis Study. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 15, p. 1549-1555, 1995. Disponível em:< <http://atvb.ahajournals.org/content/15/10/1549.long>>. Acesso em 04 maio 2016.

72. ESTELLE´S, A. *et.al.* Lipoprotein(a) levels and isoforms and fibrinolytic activity in postmenopause: influence of hormone replacement therapy. **Thromb Haemost**, v. 81, p.104–10, 1999. Disponível em:<https://www.researchgate.net/publication/12949591_Lipoproteina_levels_and_isoforms_and_fibrinolytic_activity_in_postmenopause_-_Influence_of_Hormone_Replacement_Therapy>. Acesso em: 01 maio 2016.

73. DUVILLARD, L. *et.al.* Changes in Apolipoprotein B100-Containing Lipoprotein Metabolism Due to an Estrogen Plus Progestin Oral Contraceptive: A Stable Isotope Kinetic Study. **J Clin Endocrinol Metab**, Dijon-França, v. 95, n. 5, p. 2140 –2146, 2010. Disponível em:< <http://press.endocrine.org/doi/pdf/10.1210/jc.2009-2480>>. Acesso em: 02 maio 2016.

74. SUBBIAH, M.T.R. Estrogen replacement therapy and cardioprotection: mechanisms and controversies. **Brazilian Journal of Medical and Biological Researchn**, USA, v. 35, p. 271-276, 2002. Disponível em:< http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-879X2002000300001&script=sci_arttext>. Acesso em: 09 maio 2016.

75. BONDUKI, C. *et. al.* Effect of estrogen-progestin hormonal replacement therapy on blood coagulation and fibrinolysis in postmenopausal women. **Clinics**, São Paulo , v. 62, n. 5, p. 553-560, 2007. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-59322007000500004&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 08 maio 2016.

76. HOIBRAATEN E. *et.al.* The effects of hormone replacement therapy (HRT) on hemostatic variables in women with previous venous thromboembolism: results from a randomized, double-blind, clinical trial. **Thromb Haemost** Norway, v. 85, p. 775–81, 2001. Disponível em: < <https://th.schattauer.de/en/contents/archive/issue/870/manuscript/2747.html>>. Acesso em: 09 maio 2016.

77. KOBELT, L. *et.al.* Estrogen modulates plasminogen promoter activity. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Alemanha, v. 438, p. 110–115, 2013. Disponível em:< http://ac.els-cdn.com.ez27.periodicos.capes.gov.br/S0006291X13011868/1-s2.0-S0006291X13011868-main.pdf?_tid=949674d4-1b06-11e6-bf3e-00000aacb362&acdnat=1463362755_62c5bcc53ce927b61924e9d0155bfd46>. Acesso em 4 maio 2016.

78. LOPEZ, L.M. *et.al.* Steroidal contraceptives: effect on carbohydrate metabolism in women without diabetes mellitus (Review). **Cochrane Database of Systematic Reviews** North Carolina, v. 4, 2014.

Disponível em:<<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD006133.pub5/epdf>>. Acesso em 03 maio 2016.

79. HUMPHRIES, K.H.; GILL, S Risks and benefits of hormone replacement therapy: The evidence speaks. **JAMC**, Canada, v. 168, n. 8, 15 abr. 2003. Disponível em:<<http://www.cmaj.ca/content/168/8/1001.full.pdf+html>>. Acesso em: 07 maio 2016.

80. CAUCI, S. *et.al.* Effects of third-generation oral contraceptives on high-sensitivity C-reactive protein and homocysteine in young women. **Obstetrics and gynecology** USA, v. 111, n. 4, p. 857-864, 2008. Disponível em:<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18378744>>. Acesso em: 07 maio 2016.

81. ASARE, G. *et.al.* Effect of hormonal contraceptives on lipid profile and the risk indices for cardiovascular disease in a Ghanaian community international. **Journal of Women's Health**, Ghana, v. 6, p. 597-603, 2014. Disponível em:<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4051713/pdf/ijwh-6-597.pdf>>. Acesso em: 04 maio 2016.

ANEXO A – Parecer do comitê de ética em pesquisa da UFMG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE – 42589815.0.0000.5149

Interessado(a): Profa. Iêda de Fátima Oliveira Silva
Depto. de Análises Clínicas e Toxicológicas
Faculdade de Farmácia - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 22 de abril de 2015, o projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação dos níveis de lipoproteína (a) e sua correlação com o sistema fibrinolítico em mulheres jovens e na pós-menopausa**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto através da Plataforma Brasil.

Prof. Dra. Telma Campos Medeiros Lorentz
Coordenadora do COEP-UFMG

ANEXO B – Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

I – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE

NOME DO PACIENTE: _____

DOCUMENTO DE IDENTIDADE: _____

DATA DE NASCIMENTO: ____/____/____

ENDEREÇO: _____

BAIRRO: _____ CIDADE: _____

CEP: _____ TELEFONE: DDD () _____

Email: _____

II – DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

TÍTULO DO PROJETO: “AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE LIPOPROTEÍNA (a) E SUA CORRELAÇÃO COM O SISTEMA FIBRINOLÍTICO EM MULHERES JOVENS E PÓS-MENOPAUSA.”

Carta convite ao participante do estudo: você está sendo convidada a participar de um projeto de pesquisa. Caso queira participar é importante que leia estas informações sobre o estudo e seu papel nesta pesquisa. Caso haja o entendimento da natureza da pesquisa e os riscos de sua participação é imprescindível o seu consentimento livre e esclarecido por escrito. Sua decisão em participar é totalmente voluntária. O presente estudo tem como objetivo determinar e analisar parâmetros bioquímicos e hemostáticos do sangue. Se concordar em participar deste estudo você será solicitado a:

- Responder um questionário sobre hábitos de vida, uso de medicamentos e dados pessoais como peso e idade.
- Fornecer um amostra de sangue. A coleta será realizada no laboratório de hematologia ou de bioquímica da Faculdade de Farmácia da UFMG. Nesta amostra de sangue serão analisados marcadores que possam influenciar no desenvolvimento das doenças cardiocirculatórias. Cabe ao pesquisador manter sigilo das informações coletadas durante a pesquisa. Toda informação obtida nessa pesquisa será divulgada em eventos acadêmicos, congressos e revistas especializadas, não revelando a sua identidade, que é confidencial.

Os riscos aos quais você irá se submeter são os mesmos existentes em qualquer procedimento da mesma natureza, ou seja, os mesmos existentes para coletas de sangue. Além do risco relacionado a punção venosa, o paciente irá responder uma entrevista que poderá causar constrangimento ou desconforto. Você poderá sentir dor durante a retirada de sangue, porém sem a presença de hematoma no local da punção venosa. Se por ventura ocorrer algum problema durante a coleta, deve-se comunicar prontamente a equipe do laboratório de hematologia ou de bioquímica da Faculdade de Farmácia da UFMG. A classificação do risco da pesquisa é mínima.

É importante que esteja consciente de que a sua participação neste estudo de pesquisa é completamente

/continua

ANEXO B (Continuação)

voluntária e que pode recusar-se a participar do estudo a qualquer momento. No caso de desistência do estudo, você deverá notificar ao pesquisador para que o mesmo possa retirar todos os resultados relacionados a sua amostra de sangue e não acesse mais informações sobre o seu registro.

Para informações adicionais:

O termo será assinado em duas vias e uma das vias ficará em posse do voluntário.

Caso você tenha mais perguntas sobre o estudo, por favor, entre em contato, por telefone, com os responsáveis pelo estudo, cujos nomes estão relacionados a seguir.

Profa. Dra. Ieda de Fátima Oliveira Silva - telefone (31)3499-6897.

Coordenadora do Projeto, Professora de Bioquímica Clínica da Faculdade de Farmácia da UFMG.

Danielle Basques Serenini - telefone (31)86065363.

Aluna de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG.

OBSERVAÇÃO: Este termo está de acordo com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde para pesquisas em seres humanos.

III - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Li as informações contidas neste documento antes de assinar este termo de consentimento. Declaro estar ciente sobre os métodos a serem utilizados para o estudo, as inconveniências bem como aos riscos e benefícios.

Declaro que me foi dado tempo suficiente para ler e entender as informações acima. Declaro também que toda a linguagem técnica utilizada na descrição deste estudo de pesquisa foi satisfatoriamente explicada e que recebi respostas para todas as minhas dúvidas. Confirmando também que recebi uma cópia deste formulário de consentimento. Compreendo que sou livre para me retirar do estudo em qualquer momento, sem perda de benefícios ou qualquer outra penalidade.

Dou meu consentimento de livre e espontânea vontade e sem reservas para participar como paciente deste estudo.

Nome do participante (letra de forma)

Assinatura do participante ou representante legal

Data

Declaro que o participante e/ou seu representante legal recebeu todas as informações necessárias, que foram fornecidas em uma linguagem adequada e compreensível e que ele (a) compreendeu as explicações.

Assinatura do pesquisador e Carimbo

Data

(02 vias)

ANEXO B (Conclusão)

Qualquer dúvida sob o aspecto ético deste projeto, favor entrar em contato com: COEP - Comitê de Ética em Pesquisa - Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte, MG – Brasil. telefax 31 3409-4592. Email: **coep@prpq.ufmg.br**

ANEXO C – Ficha clínica da participante

PROJETO DE PESQUISA “AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE LIPOPROTEÍNA (a) E SUA CORRELAÇÃO COM O SISTEMA FIBRINOLÍTICO EM MULHERES JOVENS E PÓS-MENOPAUSA.”

I – IDENTIFICAÇÃO:

1. Nome: _____
2. Data de nascimento: ____/____/____ (estudo aplicado a mulheres adultas)
3. Endereço: _____ 4. Telefone: _____
5. CEP: _____ Email _____
5. Data da entrevista pelo pesquisador: ____/____/____
6. Código de identificação nas amostras _____
 Jovem ou Menopausada
 + / Utiliza hormônio ou - / Não utiliza hormônio
 ____ Número da amostra (será inserido pelo pesquisador)

II – DADOS QUE SERÃO RETIRADOS DO QUESTIONÁRIO APLICADO AS PARTICIPANTES

1. Idade na data da coleta do sangue _____
2. Se participante do grupo de mulheres de 18 a 30 anos:
 Utiliza contraceptivo oral? Sim Não.
 Se a resposta for afirmativa, qual medicamento usa? _____
 A quanto tempo utiliza contraceptivo oral? _____
3. Se participante do grupo de mulheres de 50 a 60 anos:
 A quanto tempo esta no período pós-menopausa? _____
 Faz terapia de reposição hormonal? Sim Não.
 Se a resposta for afirmativa, qual medicamento usa? _____
 A quanto tempo utiliza o medicamento em questão? _____
4. Apresenta alguma das patologias abaixo?
 Doenças hepáticas
 Doenças hematológicas
 Insuficiência Renal Crônica
 Síndrome nefrótica
 Doença autoimune

/continua

ANEXO C (Conclusão)

- () Doença maligna
 - () *Diabetes mellitus*
 - () Obesidade (IMC >30)
 - () Doença inflamatória aguda
 - () Doenças tireoidianas
5. Apresenta alguma doença diferente das citadas? Qual? _____
6. É fumante? () Sim () Não
7. É etilista crônico? () Sim () Não
8. Peso_____ Altura_____
9. Utiliza algum dos medicamentos citados abaixo? Qual (is)?
- () Antiagregante plaquetário
 - () Anticoagulante
10. Utiliza outro medicamento de forma contínua? () Sim () Não
- Qual (is)? _____
11. Pratica exercícios físicos, pelo menos 3 vezes por semana por 30 minutos ? () Sim () Não
- Qual? _____

ANEXO D – Valores de referência dos marcadores estudados

Tabela 9 – Valores de referência segundo as bulas dos kits diagnósticos dos respectivos fabricantes

Analito	VR	Unidade
GLICOSE	Entre 60 e 99	mg/dL
CT	Inferior a 200	mg/dL
HDL	Superior a 60	mg/dL
LDL	Inferior a 100	mg/dL
VLDL	Inferior a 30	mg/dL
TG	Inferior a 150	mg/dL
LP(a)	Inferior a 30	mg/dL
APO A1	Entre 101 e 223	mg/dL
APO B	Entre 53 e 182	mg/dL
PAI-1	Entre 02 e 47	ng/mL
F 1+2	Entre 69 e 229	pmol/L
Di D	Inferior a 500	ng/mL
PCR	Inferior a 10	mg/L
Plasminogênio	Entre 60 e 250	µg/mL
Índice Castelli II	Risco aumentado se maior que 2,9	
Relação ApoB/ApoA	Risco aumentado se maior que 0,8	

*VR= Valor de referência; Unidade= Unidade de medida; GLICOSE= Glicose de jejum; CT= Colesterol Total; HDL=lipoproteína de alta densidade; LDL= lipoproteína de baixa densidade; VLDL= lipoproteína de muito baixa densidade; TG= triglicérides; Lp(a)= lipoproteína(a); apoA-1= apolipoproteína A-1; apoB= apolipoproteína B; PAI-1=inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1; F1+2= fragmento 1+2 da protrombina; Di D= Dímero D; PCR= proteína C reativa; Índice de Castelli II= LDL/HDL; Índice de Mc Quenn=apolipoproteína B /apolipoproteína A1.

ANEXO E – Contraceptivos orais utilizados pelas participantes do estudo

Tabela 10 – Número de participantes que utilizavam cada uma das formulações de COs

	Etinilestradiol 0,020 mg	Etinilestradiol 0,030 mg	Etinilestradiol 0,035 mg
Ciproterona 2mg			n=5
Clormadinona 2mg		n=2	
Desogestrel 0,15 mg	n=2		
Drospirenona 3mg	n=2	n=1	
Gestodeno 0,075 mg	n=3		
Levonorgestrel 0,1 mg	n=4		
Levonorgestrel 0,15 mg		n=1	

*N= Número de voluntárias do grupo JP que utilizam essa combinação (eixo x e eixo y) de hormônios.

ANEXO F – Caracterização clínica das participantes

Tabela 11a – Caracterização clínica das participantes do grupo JN

Partic.	IMC	Exercício	T. U. H	Hormônio			T.P.M
1	24	Não	x	x	x	x	x
2	27	Não	x	x	x	x	x
3	20	Sim	x	x	x	x	x
4	27	Não	x	x	x	x	x
5	22	Não	x	x	x	x	x
6	17	Não	x	x	x	x	x
7	22	Não	x	x	x	x	x
8	20	Sim	x	x	x	x	x
9	22	Não	x	x	x	x	x
10	20	Não	x	x	x	x	x
11	24	Sim	x	x	x	x	x
12	24	Sim	x	x	x	x	x
13	19	Não	x	x	x	x	x
14	25	Sim	x	x	x	x	x
15	20	Sim	x	x	x	x	x
16	18	Não	x	x	x	x	x
17	26	Não	x	x	x	x	x
18	26	Não	x	x	x	x	x
19	22	Não	x	x	x	x	x
20	20	Não	x	x	x	x	x

*Partic.= participante; IMC= índice de massa corpórea; T.U.H= tempo de uso do hormônio (em anos); T.P.M=Tempo de pós menopausa.

Tabela 11b – Caracterização clínica das participantes do grupo JP

Partic.	IMC	Exercício	T. U. H	Hormônio		T.P.M
1	22	Não	8	Etinilestradiol (0,03mg)	Clormadinona (2mg)	x
2	24	Não	6	Etinilestradiol (0,03mg)	Drospirenona (3mg)	x
3	18	Não	9	Etinilestradiol (0,03mg)	Clormadinona (2mg)	x
4	20	Sim	8	Etinilestradiol (0,02mg)	Drospirenona (3mg)	x
5	19	Sim	4	Etinilestradiol (0,035mg)	Ciproterona (2mg)	x
6	24	Não	8	Etinilestradiol (0,02mg)	Desogestrel (0,15mg)	x
7	22	Não	2,5	Etinilestradiol (0,02mg)	Gestodeno (0,075mg)	x
8	20	Não	9,5	Etinilestradiol (0,035mg)	Ciproterona (2mg)	x
9	18	Não	10	Etinilestradiol (0,02mg)	Levonorgestrel (0,1mg)	x
10	22	Sim	7	Etinilestradiol (0,02mg)	Desogestrel (0,15mg)	x
11	23	Não	2	Etinilestradiol (0,02mg)	Gestodeno (0,075mg)	x
12	24	Não	2	Etinilestradiol (0,02mg)	Levonorgestrel (0,1mg)	x
13	18	Não	5	Etinilestradiol (0,02mg)	Drospirenona (3mg)	x
14	25	Não	4	Etinilestradiol (0,02mg)	Levonorgestrel (0,1mg)	x
15	23	Sim	3	Etinilestradiol (0,02mg)	Gestodeno (0,075mg)	x
16	22	Não	9	Etinilestradiol (0,035mg)	Ciproterona (2mg)	x
17	22	Não	1	Etinilestradiol (0,035mg)	Ciproterona (2mg)	x
18	20	Sim	4	Etinilestradiol (0,035mg)	Ciproterona (2mg)	x
19	28	Não	9	Etinilestradiol (0,03mg)	Levonorgestrel (0,15mg)	x
20	21	Sim	6,5	Etinilestradiol (0,02mg)	Levonorgestrel (0,1mg)	x

*Partic.= participante; IMC= índice de massa corpórea; T.U.H= tempo de uso do hormônio (em anos); T.P.M=Tempo de pós menopausa.

Tabela 11c – Caracterização clínica das participantes do grupo MN

Partic.	IMC	Exercício	T. U. H	Hormônio			T.P.M
1	25	Sim	x	x	x	x	1
2	26	Sim	x	x	x	x	3
3	29	Sim	x	x	x	x	6
4	29	Sim	x	x	x	x	2
5	21	Sim	x	x	x	x	7
6	29	Sim	x	x	x	x	8
7	29	Não	x	x	x	x	9
8	22	Não	x	x	x	x	9
9	22	Sim	x	x	x	x	1
10	27	Sim	x	x	x	x	5
11	23	Sim	x	x	x	x	10
12	25	Sim	x	x	x	x	6
13	29	Não	x	x	x	x	9,5
14	29	Não	x	x	x	x	8
15	28	Não	x	x	x	x	1
16	23	Sim	x	x	x	x	2
17	20	Não	x	x	x	x	9
18	23	Não	x	x	x	x	9
19	26	Não	x	x	x	x	7
20	27	Não	x	x	x	x	6
21	24	Não	x	x	x	x	6
22	24	Não	x	x	x	x	7
23	20	Sim	x	x	x	x	3
24	23	Sim	x	x	x	x	9
25	25	Não	x	x	x	x	6

*Partic.= participante; IMC= índice de massa corpórea; T.U.H= tempo de uso do hormônio (em anos); T.P.M=Tempo de pós menopausa.

Tabela 11d – Caracterização clínica das participantes do grupo MP

Partic.	IMC	Exercício	T. U. H	Hormônio		T.P.M
1	23	Sim	7	Estradiol (1mg)	Noretisterona (0,5mg)	10
2	22	Sim	1	Estradiol (1mg)	Drospirenona (2mg)	2
3	25	Não	5	Estradiol (1mg)	x	5
4	22	Sim	4	Estradiol (1mg)	x	4
5	27	Não	1	Estradiol (1mg)	Noretisterona (0,5mg)	1
6	26	Não	3	Estradiol (1mg)	Noretisterona (0,5mg)	3
7	24	Sim	4	Estradiol (1mg)	Noretisterona (0,5mg)	4
8	27	Sim	10	Estradiol (1mg)	Noretisterona (0,5mg)	10
9	35	Sim	9	Estradiol (1mg)	Drospirenona (2mg)	9
10	27	Não	1	Estradiol (1mg)	Gestodeno (0,025mg)	1
11	28	Não	7	Estradiol (1mg)	Noretisterona (0,5mg)	7
12	24	Sim	3	Estradiol (1,5mg)	x	5
13	29	Sim	4	Estradiol (2mg)	Ciproterona (1mg)	4
14	22	Não	4	Estrogênios conjugados (0,625mg)	x	4
15	21	Não	9	Estrogênios conjugados (0,625mg)	x	9
16	23	Não	3	Estradiol	Progesterona a cd 3 meses	4
17	26	Sim	2	Estradiol (2mg)	Noretisterona (1mg)	10

*Partic.= participante; IMC= índice de massa corpórea; T.U.H= tempo de uso do hormônio (em anos); T.P.M=Tempo de pós menopausa.

ANEXO G – Resumo dos achados na literatura para o perfil lipídico

Tabela 12 – Resumo dos achados na literatura para o perfil lipídico clássico e complementar

Autor	COs	TRH	Idade
Soma <i>et.al.</i> ; 1991	-	↑HDL ↓LDL	-
Santos <i>et.al.</i> ; 2008	↑CT ↑TG	-	-
Anagnostis <i>et.al.</i> ; 2015	-	↓CT, LDL, TG ↑HDL	-
Raskin <i>et.al.</i> ; 2003	-	-	↑CT, LDL, TG ↓HDL
Boerwinkle <i>et.al.</i> ; 1992	-	-	(-) Lp(a)
Harukuni <i>et.al.</i> ; 2002	-	-	↑ Lp(a)
Nago <i>et.al.</i> ; 1995	-	-	↑ Lp(a)
Janner <i>et.al.</i> ; 1993	-	(-) Lp(a)	↑ Lp(a)
Soma <i>et.al.</i> ; 1991	-	↓ Lp(a)	-
Chen F <i>et.al.</i> ; 2011	↑ Lp(a)	-	-
Duvillard <i>et.al.</i> ; 2010	↑ apoB	-	-

COs= Contraceptivos orais; TRH= Terapia de reposição hormonal; ↑= Aumento; ↓=Redução; (-)= Não interferiu; CT=colesterol total; TG= triglicérides; HDL= Lipoproteína de alta densidade; LDL= lipoproteína de baixa densidade; Lp(a)= lipoproteína (a); apoB= apolipoproteína B

ANEXO H – Resumo dos achados na literatura para marcadores hemostásicos

Tabela 13 – Resumo dos achados na literatura para os marcadores hemostásicos

Autor	COs	TRH	Idade
Cano <i>et.al.</i> ; 2001	Estróg. ↓ PAI-1	-	-
Levi <i>et.al.</i> ; 1991	↑ F1+2 ↑ Plasm	-	-
Kobelt <i>et.al.</i> ; 2003	↑ Plasm	↑ Plasm	-
Saloma <i>et.al.</i> ; 1995	-	↑ Plasm	-
Bonduki <i>et.al.</i> ; 2007	-	↑ F1+2	-
Skouby; 2015	-	↓ PAI-1	-
Urban <i>et.al.</i> ; 2014	-	-	↑ Di-D
Meas <i>et.al.</i> ; 2010	-	-	↑ PAI-1

COs= Contraceptivos orais; TRH= Terapia de reposição hormonal; ↑= Aumento; ↓=Redução;Estróg.=estrógenos; PAI-1=inibidor do ativador do plasminogênio tecidual tipo 1; Plasm=plasminogênio; F1+2=fragmento 1+2 da protrombina; Di D= Dímero D;

ANEXO I – Resumo dos achados na literatura para a glicose e PCRus

Tabela 14 – Resumo dos achados na literatura para glicose e PCRus

Autor	COs	TRH	Idade
Lopez <i>et.al.</i> ;2014	(-)Glicose	-	-
Humphries <i>et.al.</i> ; 2003	-	↓Glicose	-
Raskin <i>et.al.</i> ; 2003	-	-	↑Glicose
Magalhães C.K.; 2001	-	-	↑PCR
Cauci <i>et.al.</i> ; 2008	↑PCR	-	-

COs= Contraceptivos orais; TRH= Terapia de reposição hormonal; ↑= Aumento; ↓=Redução; (-)= Não interferiu; PCR= proteína C reativa ultrasensível

ANEXO J –Resumo dos achados na literatura para índice de Castelli II

Tabela 15 – Resumo dos achados na literatura para o índice de Castelli II

Autor	COs	TRH	Idade
Subbiah <i>et.al.</i> ;2002	–	↓Índice Castelli II	–
Asari <i>et.al.</i> ; 2014	↑Índice Castelli II	–	–
Raskin <i>et.al.</i> ; 2003	–	–	↑Índice Castelli II

COs= Contraceptivos orais; TRH= Terapia de reposição hormonal; ↑= Aumento; ↓=Redução;